



**UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE**

**FACOLTA' DI INGEGNERIA**

---

Corso di Laurea triennale in Ingegneria Biomedica

**IDENTIFICAZIONE AUTOMATICA DI COMPLICANZE A  
CARICO DEL SISTEMA NERVOSO DOVUTE AL COVID-19**

**AUTOMATIC IDENTIFICATION OF COMPLICATIONS  
AFFECTING THE NERVOUS SYSTEM DUE TO COVID-19**

Relatore:

Prof.ssa Laura Burattini

Tesi di Laurea di:

Samuele Barbizzi

Correlatore:

Dott.ssa Ilaria Marcantoni

A.A. 2020/2021

## Abstract

La malattia causata dal virus SARS-CoV-2 è stata identificata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità con il nome di COVID-19. Inizialmente il COVID-19 si è diffuso in tutta la Cina per poi ricevere attenzione in tutto il mondo. Sono stati identificati fin da subito i sintomi più comuni che concernono le vie respiratorie superiori e inferiori. In seguito, sono stati evidenziati deficit inerenti principalmente al sistema nervoso centrale (SNC). Lo scopo di questa tesi è proporre una metodologia che permetta l'identificazione automatica delle complicanze a carico del sistema nervoso dovute al Covid-19. Il metodo proposto avrebbe il fine di determinare come il virus SARS-CoV-2 compromette la normale attività cerebrale di un paziente contagiato rispetto a un soggetto sano, nel caso in cui i due siano sottoposti al medesimo stimolo visivo. Il SNC è la parte di sistema nervoso costituita dal cervello e dal midollo spinale, di cui fanno parte anche il cervelletto e il tronco encefalico. Il SNC ha il compito di rielaborare le informazioni che giungono dal sistema nervoso periferico (SNP) fornendo le risposte che verranno ridistribuite nell'organismo sempre attraverso il SNP. In particolare, il cervello elabora le informazioni raccolte dal midollo spinale così da regolare le principali funzioni dell'organismo, come la memoria, i pensieri, le sensazioni e i movimenti. L'attività elettrica del cervello può essere misurata grazie all'elettroencefalografo, tramite il quale si ottiene l'elettroencefalogramma (EEG) ovvero la registrazione dell'attività elettrica del cervello. L'attività cerebrale dà origine a onde elettriche. Queste onde cambiano di forma e frequenza quando si passa dal sonno alla veglia e sono presenti anche a riposo con un ritmo regolare. L'EEG registra la differenza di potenziale elettrico esistente tra coppie di elettrodi posizionati sulla testa in corrispondenza di diverse aree della superficie del cervello (corteccia cerebrale). Il COVID-19, acronimo dell'inglese COronaVirus Disease 19, è una malattia infettiva respiratoria causata dal virus denominato SARS-CoV-2 appartenente alla famiglia dei coronavirus. SARS-CoV-2 utilizza l'ACE2 come principale recettore di attacco della "proteina spike" per l'ingresso cellulare. Le attuali evidenze suggeriscono che la trasmissione avviene da persona a persona. Quando la persona ammalata tossisce, starnutisce, parla o canta le secrezioni vengono rilasciate dalla bocca o dal naso. Le persone che sono a contatto stretto con un soggetto infetto possono contagiarsi se le goccioline entrano nel naso, nella bocca e negli occhi. I sintomi di COVID-19 variano sulla base della gravità della malattia, dall'assenza di sintomi (essere asintomatici) a presentare febbre, tosse, mal di gola, debolezza, affaticamento e dolore muscolare. Studi scientifici dimostrano come il Covid-19 colpisce il cervello in vari modi, tra i quali l'infezione diretta delle cellule neurali con SARS-CoV-2, e la grave infiammazione sistemica che inonda il cervello di agenti pro-infiammatori danneggiando così le cellule nervose. I danni cerebrali

diffusi sono di tipo infiammatorio o metabolico a comparsa acuta, chiamati encefalopatie tossiche-metaboliche. Inoltre, alcuni pazienti sviluppano ictus cerebrale, crisi epilettiche, disturbi di ansia e dell'umore, in parte imputabili alla modificazione dei rapporti sociali e alla compromissione del benessere individuale. Il dato reale utilizzato per l'analisi è stato ottenuto dal database "EEG Signals from an RSVP Task" in PhysioNet, contenente l'EEG di un soggetto sano. L'EEG è stato acquisito durante una rapida presentazione delle immagini a velocità di 10 Hz. Questo protocollo può essere riproposto allo stesso modo nel caso di un soggetto malato. Per il processamento dei dati è stato utilizzato EEGLab. Quest'ultimo è un toolbox funzionante sotto ambiente MATLAB. EEGLab fornisce un'interfaccia grafica grazie alla quale è possibile lavorare con i dati reali. Al fine di individuare i possibili deficit cognitivi relativi a un'infezione da SARS-CoV-2, una tipologia di analisi che può essere condotta sui tracciati EEG, a seguito di un'opportuna pre-processamento dei dati reali, riguarda il potenziale evento-correlato (ERP) dall'inglese event-related potential. Gli ERP sono tensioni molto piccole generate nelle strutture cerebrali in risposta a eventi o stimoli specifici, in particolare stimoli visivi nella casistica proposta. I segnali ERP sono molto importanti nel campo delle neuroscienze poiché aiutano a comprendere come le funzioni cognitive, e le relative manifestazioni in comportamenti, sono correlate all'attività cerebrale. In seguito al processamento dei dati, nel grafico che si ottiene, vi è raffigurata una codifica colore che va dal blu al rosso scuro. Nelle zone in cui è presente il colore rosso si verifica un aumento dell'intensità dell'attività cerebrale, mentre nelle regioni del grafico in cui vi è il colore verde e blu, l'intensità cerebrale non è significativa. In relazione a un paziente contagiato da SARS-CoV, questa tipologia di analisi aiuterebbe a delineare, analizzando le variazioni dell'intensità dell'attività cerebrale, possibili disturbi cerebrali come confusione mentale, scarsa lucidità e incapacità a mantenere l'attenzione per tempi prolungati.

# Indice

•	Introduzione.....	I
•	<b>Capitolo 1: ANATOMIA E FISIOLOGIA DEL SISTEMA NERVOSO.....</b>	<b>1</b>
	1.1 Sistema nervoso centrale.....	1
	1.1.1 Midollo spinale.....	7
	1.1.2 Tronco encefalico.....	8
	1.1.3 Cervello.....	9
	1.2 Sistema nervoso periferico.....	16
•	<b>Capitolo 2: ELETTROENCEFALGRAMMA.....</b>	<b>19</b>
	2.1 Origine del segnale elettroencefalografico.....	19
	2.2 Metodo di acquisizione del segnale.....	19
	2.3 Elettroencefalografo.....	21
	2.3.1 Metodologie posizionamento elettrodi.....	23
	2.4 Caratterizzazione dell'elettroencefalogramma.....	23
	2.5 Analisi del segnale elettroencefalografico.....	25
•	<b>Capitolo 3: COVID-19 E SUE COMPLICANZE A CARICO DEL SISTEMA NERVOSO.....</b>	<b>27</b>
	3.1 Struttura del virus SARS-CoV-2.....	27
	3.2 Epidemiologia.....	28
	3.3 Eziologia.....	31
	3.4 Diffusione per genere.....	33
	3.5 Trasmissibilità e sintomi.....	37
	3.6 Trattamenti e cura.....	38
	3.7 Complicanze.....	40
	3.7.1 Complicanze a carico del sistema nervoso.....	42
•	<b>Capitolo 4: ANALISI DI UN DATO REALE PER RILEVARE IL POTENZIALE EVENTO-CORRELATO TRAMITE EEGLAB.....</b>	<b>51</b>
	4.1 Descrizione database.....	51
	4.2 Metodo di analisi proposto.....	52

4.3 Descrizione risultati.....	63
4.4 Discussione risultati.....	67
• Conclusione.....	III
• Bibliografia.....	IV

# Introduzione

Il 31 dicembre 2019, le autorità sanitarie cinesi hanno notificato un focolaio di casi di polmonite a eziologia non nota nella città di Wuhan (Provincia dell'Hubei, Cina).<sup>[1]</sup> La causa del cluster di malattia respiratoria acuta, viene associata alla diffusione di un nuovo Coronavirus non precedentemente identificato nell'uomo. L'11 febbraio 2020 il direttore generale dell'OMS ha ufficialmente individuato il nome della malattia derivante dall'infezione del nuovo Coronavirus come COVID-19; quest'ultimo rappresenta l'acronimo di Co (corona); Vi (virus); D ('disease', malattia) e 19 (l'anno di identificazione del virus). Negli stessi giorni l'International Committee on Taxonomy of Viruses ha classificato il nuovo coronavirus nominandolo Sars-CoV-2.<sup>[2]</sup>

Il COVID-19 originariamente si è diffuso in tutta la Cina per poi diffondersi in tutto il mondo; l'11 marzo 2020 il direttore generale dell'OMS ha definito la diffusione del Coronavirus non più una epidemia confinata ad alcuna zona geografica, ma una pandemia diffusa in tutto il pianeta.<sup>[3]</sup>

Il 1° maggio 2021 sono stati segnalati all'OMS oltre 153 milioni di casi confermati di COVID-19 e 3,2 milioni di decessi correlati. La regione delle Americhe e la regione europea sono state le più colpite, facendo registrare al loro interno oltre tre quarti dei casi segnalati a livello globale, con i rispettivi tassi di casi per 100.000 abitanti di 6.114 e 5.562 e quasi la metà (48%) di tutti i decessi COVID-19 nella regione delle Americhe e un terzo (34%) nella regione europea. Dei 23,1 milioni di casi segnalati fino ad oggi nella regione del sud-est asiatico, oltre l'86% è invece attribuito all'India. Nonostante l'ampia diffusione del virus, fino ad oggi i casi di COVID-19 sembrano concentrarsi prevalentemente nei paesi ad alto reddito. I 20 paesi di questa fascia più colpiti raccolgono quasi la metà (45%) dei casi cumulativi di COVID-19 nel mondo, ma rappresentano solo un ottavo (12,4%) della popolazione globale.<sup>[3]</sup>

La comunità scientifica ha evidenziato differenze tra uomini e donne nel contrarre l'infezione da Sars-CoV-2 e nello sviluppare la malattia definita Covid-19. Le donne tendono ad ammalarsi meno rispetto agli uomini, in quanto sviluppano una migliore risposta immunitaria, sono più attente all'igiene personale e meno inclini al tabagismo. I dati indicano che globalmente, le donne, rispetto agli uomini, presentano meno complicanze e hanno una minore mortalità.<sup>[3]</sup>

Questo virus si è diffuso rapidamente in tutto il pianeta causando una pandemia globale e fin da subito sono stati identificati i sintomi più comuni che concernono le vie respiratorie superiori e inferiori. I sintomi più comuni di un'infezione delle alte vie respiratorie da parte dei coronavirus nell'uomo includono febbre, tosse, cefalea, difficoltà respiratorie, malessere generale per un breve periodo di tempo. Nei casi più gravi, l'infezione può causare polmonite o broncopolmonite, sindrome respiratoria acuta grave, insufficienza renale. L'interessamento delle basse vie respiratorie e le

complicanze sono più frequenti nelle persone con preesistenti patologie croniche dell'apparato cardio-vascolare e/o respiratorio e nelle persone con compromissione del sistema immunitario, nei neonati, negli anziani e nei soggetti diabetici. Tuttavia, progredendo con lo studio su pazienti affetti da Sars-CoV-2, sono emerse sintomatologie inerenti al SNC, che possono perdurare anche nel tempo. Quasi il 40% dei pazienti che hanno contratto il Covid-19 attesta di soffrire di disturbi neurologici di vario tipo e gravità. I sintomi più comuni e più lievi causati dall'infezione del nuovo coronavirus sono mal di testa, disturbi della percezione di gusto e olfatto (ageusia e anosmia, rispettivamente), offuscamento della mente e disturbi di memoria. Tra le complicanze di gravità maggiore, invece, le più comuni sono: danni cerebrali diffusi di tipo infiammatorio o metabolico, chiamati encefalopatie tossiche-metaboliche, ictus cerebrale e crisi epilettiche. Inoltre, alcuni pazienti sviluppano disturbi di ansia e dell'umore.<sup>[3]</sup>

È importante quindi approfondire la ricerca su questa tematica al fine di riuscire a identificare in maniera più efficiente la modalità con cui questo coronavirus attacca le componenti nel nostro sistema nervoso e in che modo è identificabile la variazione delle funzionalità del sistema nervoso attraverso l'analisi del tracciato elettroencefalografico. Lo scopo finale di questa tesi è proporre una metodologia che consenta l'identificazione automatica delle complicanze a carico del sistema nervoso dovute al Covid-19. In particolare, si andrà ad analizzare un ERP, ovvero una risposta cerebrale misurabile, che si forma direttamente come risultato di un pensiero oppure di una percezione. Ciò consentirà un approccio sicuro e non invasivo per studiare i correlati psicofisiologici dei processi mentali di un paziente affetto da COVID-19, in modo tale da estrarre informazioni che permettono anche di rilevare particolari attività dei ritmi alpha, beta, delta e gamma associabili all'infezione da SARS-CoV-2.

# Capitolo 1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DEL SISTEMA NERVOSO

## 1.1 Sistema nervoso centrale

Il SNC rappresenta l'insieme delle formazioni nervose contenute all'interno della cavità cranica e del canale vertebrale. Nel SNC hanno sede quei meccanismi che consentono l'adattamento costante dell'individuo alle continue variazioni ambientali. Tale funzione, si è progressivamente evoluta, giungendo nei mammiferi a un livello tale da consentire l'elaborazione contemporanea di diverse informazioni provenienti sia dall'esterno, sia dall'interno dell'organismo. Tale elaborazione determina risposte più o meno complesse tramite le quali il SNC è in grado di regolare, in maniera finalistica, la funzione di tutti gli apparati. In tal modo il SNC consente sia l'adattamento all'ambiente circostante, sia l'adeguamento alle variazioni dell'ambiente interno. Il SNC in effetti riceve informazioni sia dall'ambiente esterno sia da quello interno, tramite fibre che portano informazioni dalla periferia. Tali informazioni raggiungono il SNC dove vengono elaborate in modo da generare risposte adeguate alla natura dello stimolo percepito, che vengono inviate alla periferia tramite fibre che escono dal SNC. Con il termine "periferia" si intende tutto ciò che sta all'esterno del SNC, quindi gli apparati e i sistemi con i loro organi, ma anche l'ambiente esterno. Il SNC risulta costituito dalla ripetizione di circuiti (catene neurali) che aumentano di numero e complessità dagli organismi più elementari a quelli più evoluti nella scala zoologica, disponendosi tra loro in serie o in parallelo.<sup>[4]</sup> (Fig.1)

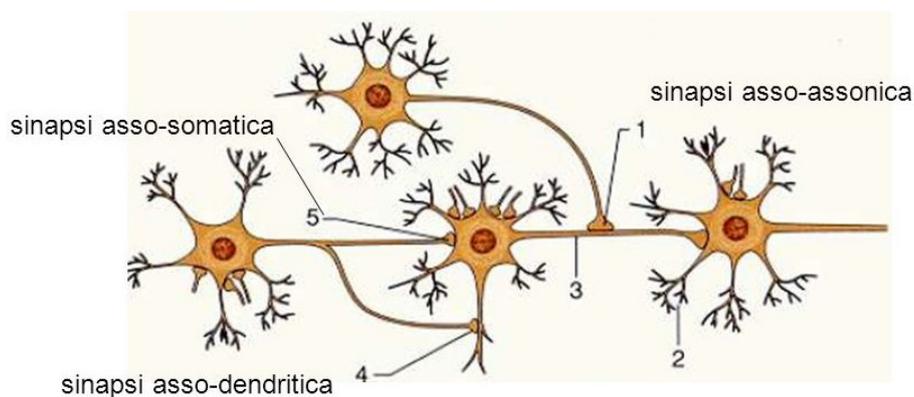


Fig.1 Catena neuronale

Tali circuiti sono costituiti da: 1) una cellula che prende contatto con la periferia, dove raccoglie le informazioni (neurone sensitivo); 2) una cellula che invia messaggi alla periferia, per realizzare contrazioni muscolari o attività secretorie (neurone effettore); 3) una cellula interposta tra le due che

modula le informazioni in arrivo con il segnale in uscita (interneurone). I principi generali di funzionamento del SNC possono essere compresi immaginando un numero estremamente elevato di queste catene.<sup>[4]</sup>

Alla base delle funzioni del SNC, vi è il neurone. Il neurone è una cellula specializzata nella rapida trasmissione dei segnali elettrici che, giunti alle terminazioni dei suoi prolungamenti, liberano sostanze chimiche (neurotrasmettitori) mediante le quali il neurone comunica con altre cellule. Il neurone è in grado di modificare continuamente la qualità e la quantità di questi contatti realizzando un apprezzabile plasticità tramite la quale il SNC può memorizzare nuove esperienze. Infatti, fenomeni come l'apprendimento, la memoria, le emozioni, la capacità critica e di giudizio costituiscono in parte le cosiddette funzioni cognitive e sono largamente basate sulla capacità del neurone (e quindi delle reti di catene neuronali) di modificare le proprie risposte in seguito a stimoli ricevuti precedentemente. I neuroni sono cellule eccitabili, capaci cioè di rispondere a stimoli fisici e chimici mediante modificazioni della concentrazione di ioni sulle due facce della loro membrana plasmatica, di produrre segnali in forma di variazioni di potenziale elettrico, di propagare o condurre segnali dal punto di insorgenza ad altre parti della cellula e di trasmettere segnali ad altre cellule mediante dispositivi giunzionali specifici, le sinapsi. Infine, sono dotati della proprietà di memorizzazione. I neuroni sono cellule il cui ciclo vitale si può estendere per tutto l'arco della vita dell'organismo e sono dotate, entro certi limiti, di capacità adattive sia in condizioni fisiologiche sia in condizioni patologiche.<sup>[4]</sup>

Indipendentemente dalla varietà di forma tutti i neuroni presentano un corpo cellulare o soma, uno o più dendriti, un assone o neurite e le terminazioni presinaptiche.<sup>[4]</sup> (Fig.2)

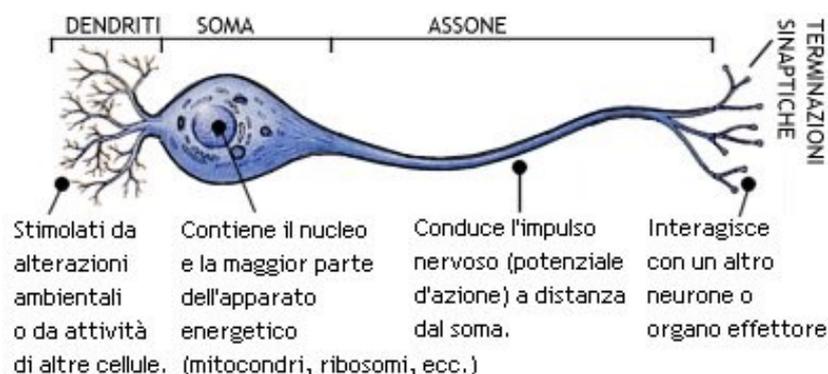


Fig.2 Struttura del neurone

Il corpo cellulare, o soma, ha forma rotondeggiante o poliedrica e ha dimensioni variabili da 4-6  $\mu\text{m}$  a 100-120  $\mu\text{m}$ . Il soma è la parte del neurone contenente il nucleo. Il corpo cellulare costituisce il centro delle attività metaboliche, in particolare della sintesi proteica, e di controllo del flusso di prodotti sintetizzati verso le parti distali dei prolungamenti dendritici e dell'assone. Rappresenta inoltre il centro di integrazione dei segnali della membrana plasmatica.<sup>[4]</sup>

I dendriti sono espansioni del corpo cellulare, dal quale originano senza specifici caratteri strutturali e nei quali si ritrovano gli stessi organuli citoplasmatici presenti nel soma. I dendriti diminuiscono gradualmente di diametro man mano che si allontanano dal soma e comunemente si ramificano al pari di un albero, formando un'arborizzazione nella quale i rami hanno calibro decrescente e lunghezza variabile da alcune decine a centinaia di micron ( $\mu\text{m}$ ). I dendriti costituiscono il sistema di ricezione dei segnali che il neurone può raccogliere da altri neuroni o direttamente dall'ambiente esterno.<sup>[4]</sup>

L'assone o neurite, prende origine da un progressivo restringimento del corpo cellulare, il cono di emergenza, e continua in un segmento iniziale, che mostra alcune peculiari caratteristiche ultrastrutturali. Sia il cono di emergenza sia il segmento iniziale costituiscono la regione responsabile della genesi del segnale elettrico o potenziale d'azione, che il neurone può produrre in seguito a uno stimolo eccitatorio. Questo segnale consiste in una depolarizzazione rapida e transitoria della membrana plasmatica e si propaga lungo tutto l'assone, a una velocità compresa fra 1 e 100 m/s. L'assone mantiene la forma cilindrica e un calibro costante per la maggior parte della sua lunghezza e può dare origine a brevi rami di piccolo calibro. L'assone, al di là del segmento iniziale, acquisisce un rivestimento formato da cellule della glia che lo ricoprono per tutta la sua estensione, con l'eccezione della membrana presinaptica delle terminazioni. Ogni assone comunemente si suddivide alla sua estremità distale in più rami preterminali di calibro inferiore, provvisti anch'essi di guaina mielinica. Ciascuno di questi a sua volta forma un numero variabile di terminazioni nervose o terminazioni sinaptiche in forma di bottoni, di varicosità ramificate. La membrana della terminazione è in parte ricoperta da cellule della glia che la isolano dalle cellule contigue. Solo in un'area limitata è in diretto rapporto con la membrana di una seconda cellula nervosa. Il dispositivo di giunzione che si costituisce prende il nome di sinapsi o giunzione sinaptica. Nel SNC i neuroni sono di regola completamente coperti da cellule gliali, che formano una sorta di barriera tra i neuroni e i vasi sanguiferi che irrorano il tessuto nervoso (barriera ematoencefalica). Solo in poche zone del sistema nervoso ciò non avviene e le terminazioni sinaptiche prendono contatto diretto con la superficie dei capillari.<sup>[4]</sup>

Il rivestimento dell'assone è costituito, nelle fasi iniziali dello sviluppo, da un'espansione laminare del citoplasma di uno o più cellule gliali. Tale rimane nel caso delle fibre amieliniche, mentre si

differenzia in una vera e propria guaina plurilaminare nel caso delle fibre mieliniche. Queste ultime costituiscono la quasi totalità nel SNC e gran parte del sistema nervoso periferico (SNP) al termine di sviluppo. Gli assoni del SNC acquisiscono il rivestimento mielinico in seguito a differenziazione di cellule gliali specifiche, gli oligodendrociti, interposte tra gruppi di assoni. Ogni oligodendrocito produce estese lamine citoplasmatiche che circondano diversi assoni e li avvolgono con un numero crescente di spire. Parallelamente all'estendersi attorno all'assone, si ha la graduale scomparsa del citoplasma entro la lamina, che risulta alla fine formata dalle sole membrane plasmatiche accollate. In questo modo il rivestimento dell'assone risulta composto da un sistema a spirale derivante dalla membrana plasmatica dell'oligodendrocita, la guaina mielinica. Analogo comportamento hanno le cellule di Schwann, particolari cellule gliali che formano le guaine mieliniche degli assoni dei nervi nel SNP. La guaina mielinica ha una composizione specifica data dai lipidi e dalle proteine di membrana degli oligodendrociti e ha un colore bianco che identifica le parti del SNC formate da queste fibre come sostanza bianca. Mentre nel SNC ogni oligodendrocito contribuisce a formare diverse fibre mieliniche, nel SNP diverse cellule di Schwann costituiscono segmenti successivi della guaina mielinica (segmenti internodali), che risulta così interrotta da brevi tratti privi di mielina detti nodi di Ranvier.<sup>[5]</sup> (Fig.3)

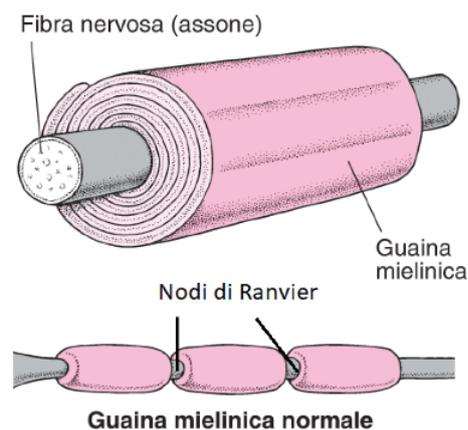


Fig.3 Guaina mielinica e Nodi di Ranvier

La trasmissione dei segnali elettrici prodotti al livello del soma del neurone e propagati lungo l'assone avviene attraverso giunzioni specifiche costituite fra due neuroni, le sinapsi interneuronali. Tali giunzioni sono costituite dall'apposizione di due aree di membrana differentemente specializzate, di cui quella del neurone che trasmette è detta membrana presinaptica e permette la liberazione di un messaggero chimico, o neurotrasmettitore, mentre quella del neurone ricevente è la membrana

postsinaptica ed è provvista di proteine specifiche (recettori) per tale neurotrasmettitore. Fra le due membrane rimane uno spazio, la fessura o intervallo sinaptico, di pochi nanometri (nm), in cui sono localizzate proteine che intervengono nella regolazione del mantenimento della giunzione e del metabolismo del neurotrasmettitore liberato. Questa giunzione, o sinapsi chimica, può avere luogo tra la terminazione assonica e un dendrite, oppure un soma neuronale, o infine l'assone di un altro neurone. La terminazione sinaptica (bottone) contiene comunemente mitocondri, elementi del citoscheletro, ed è costituito da diverse vescicole sinaptiche, di numero, forma, diametro e contenuto differenti secondo la specificità chimica del neurone.<sup>[5]</sup>

Gli input sinaptici verso un neurone possono essere di due tipi: quelli che producono potenziali postsinaptici eccitatori e quelli che inducono potenziali postsinaptici inibitori. I primi, provocano una depolarizzazione nella membrana postsinaptica del neurone, aumentando così la probabilità che venga generato un potenziale d'azione; i secondi agiscono in modo contrario, iperpolarizzando la membrana del neurone e abbassando così la probabilità che quest'ultimo scarichi un potenziale d'azione. L'arrivo alla terminazione sinaptica dell'impulso nervoso, cioè del potenziale elettrico propagatosi lungo la membrana dell'assone, determina nella membrana presinaptica l'apertura di canali attraverso i quali si ha un flusso di ioni calcio dall'esterno all'interno della terminazione. L'aumento di concentrazione di ioni calcio che così si determina provoca la fusione delle vescicole sinaptiche con la membrana presinaptica e la conseguente liberazione per esocitosi del neurotrasmettitore, le cui molecole diffondono nella fessura sinaptica. La membrana postsinaptica è un'area specializzata della membrana neuronale, morfologicamente identificabile per l'accumulo di materiale denso sulla sua faccia citoplasmatica. L'elemento caratterizzante di quest'area è dato da proteine di membrana specifiche per i neurotrasmettitori, o recettori. Il neurotrasmettitore liberato nella fessura sinaptica si lega infatti ai suoi recettori attivandoli in modo tale che questi, direttamente o indirettamente determinano l'apertura o la chiusura di canali ionici, producendo in tal modo un nuovo segnale (impulso). Le sinapsi chimiche costituiscono un dispositivo che permette la trasmissione unidirezionale e l'amplificazione dei segnali, con un intervallo, o ritardo sinaptico, dell'ordine di frazioni o unità di millisecondi (ms), dovuto al susseguirsi degli eventi indicati. (Fig.4) Caratteri e proprietà interamente diversi hanno le sinapsi elettriche, presenti in alcune aree del SNC. Sono costituite infatti da giunzioni comunicanti, o gap junctions, che permettono la propagazione diretta delle variazioni di potenziale dalla membrana di una cellula alla successiva, senza l'intervento di intermediari chimici. Le sinapsi di questo tipo garantiscono una trasmissione priva di ritardo sinaptico e l'attivazione sincrona degli elementi connessi, risultando quindi bidirezionali.<sup>[5]</sup>

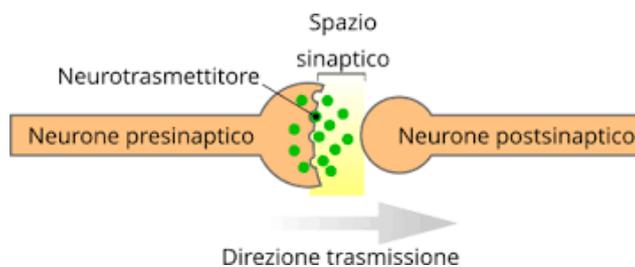


Fig.4 Direzione della trasmissione dei segnali elettrici

Nel tessuto nervoso, oltre ai neuroni, sono presenti anche le cellule gliali. Ritenute inizialmente semplici elementi di sostegno, sono in realtà elementi importanti anche per la regolazione della comunicazione sinaptica e per la crescita dei neuroni. Le cellule della nevroglia o glia sono elementi che svolgono funzioni trofiche di supporto meccanico, di regolazione della composizione del microambiente extracellulare che circonda i neuroni e di isolamento elettrico degli assoni. Esse inoltre costituiscono la popolazione quantitativamente prevalente nel SNC (10-50 volte superiore a quella dei neuroni). Nel SNC si distinguono anche le cellule della microglia: sono elementi di piccole dimensioni e forma irregolare, contenenti numerosi lisosomi. Sono in prevalenza aderenti alla parete dei capillari sanguiferi, presentano un'attività fagocitaria e acquisiscono i caratteri propri dei macrofagi quando sono attivati da condizioni quali lesioni traumatiche e infiammatorie e processi degenerativi del tessuto nervoso.<sup>[5]</sup>

Nel SNC è presente la barriera ematoencefalica, con questo termine si indica il complesso di formazioni che separa fisicamente le reti neuronali dal sangue. Funzionalmente, la barriera ematoencefalica serve a selezionare le sostanze che dal sangue giungono ai neuroni e viceversa. Essa è costituita dalle cellule endoteliali dei capillari del SNC e dai prolungamenti degli astrociti (particolari tipi di cellule della nevroglia) per i capillari che contraggono stretti rapporti con l'endotelio capillare.<sup>[5]</sup> (Fig.5)

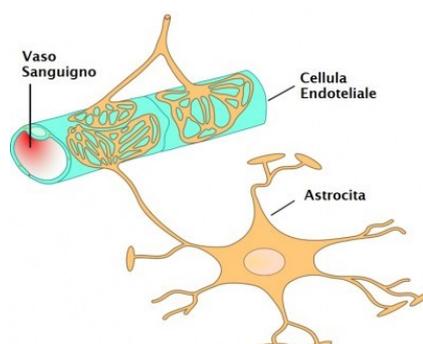


Fig.5 Astrocita in rapporto con un sottile vaso sanguifero

Poiché gli stessi astrociti avvolgono determinate parti dei neuroni tramite altri prolungamenti, ne consegue che gli astrociti pericapillari mediano fisicamente (e metabolicamente) i rapporti tra il sangue e i neuroni. In tal mondo, arrivano ai neuroni solo determinate sostanze presenti nel plasma e, viceversa, dai neuroni passano nel plasma solo determinate sostanze. L'azione di selezione operata dalla barriera si interrompe in caso di insulti al SNC (traumi, infezioni, accidenti cerebrovascolari). Con il termine neuropilo si identifica un denso intreccio di terminali assonici, dendriti e processi delle cellule gliali (astrociti e oligodendrociti) che comprende anche le connessioni sinaptiche tra le ramificazioni assoniche e i dendriti.<sup>[5]</sup>

Dove la barriera emato-encefalica è interrotta, sono presenti gli organi circumventricolari, ovvero raggruppamenti cellulari collocati in regioni ventricolari paramediane. La barriera emato-encefalica è sostituita dai taniciti, delle cellule ependimali specializzate. I taniciti producono in parte il liquido cerebrospinale, concorrono anche all'endocitosi di sostanze utili per la glia o per i neuroni sottostanti e ne secernono altre all'interno del liquor; sono inoltre importanti chemocettori. Vi sono almeno sette organi circumventricolari nell'encefalo umano, i più importanti sono: l'organo vascoloso, l'organo subfornicale, l'organo subcommissurale, l'eminenza mediana, la neuroipofisi, l'area postrema e l'epifisi.<sup>[5]</sup>

### 1.1.1 Midollo spinale

Il SNC, definito come l'insieme delle formazioni nervose contenute all'interno della cavità cranica e del canale vertebrale, è costituito dall'encefalo e dal midollo spinale. Dal primitivo tubo neurale derivano le parti assiali del SNC, cioè il midollo spinale, contenuto nel canale vertebrale e il tronco cerebrale o encefalico, suo prolungamento entro la scatola cranica. Considerando la sua evoluzione embriologica, il tronco encefalico viene suddiviso in tre parti successive: il bulbo o midollo allungato, il ponte e il mesencefalo. Durante la vita embrionale le parti dorsali del bulbo e del ponte danno origine al cervelletto, la parte dorsale del mesencefalo alla lamina quadrigemina. Esse vengono perciò definite come centri soprassiali, assieme al telencefalo (o emisferi cerebrali), che si sviluppa a partire dalla porzione più cefalica del primitivo tubo neurale. Nella parte centrale del telencefalo rimane compresa una porzione dalle caratteristiche in parte di organo assiale in parte di organo sopra assiale, il diencefalo.<sup>[6]</sup>

Il midollo spinale fa parte del SNC, insieme all'encefalo con il quale è in diretta continuazione.<sup>[6]</sup>  
(Fig.6)

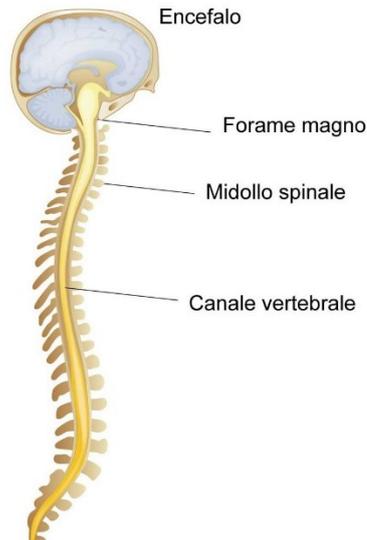


Fig.6 Encefalo e canale vertebrale

Esso è accolto nel canale o speco vertebrale e ha la forma di un lungo cilindro, leggermente appiattito, lungo circa 44 cm. È collegato alla periferia da una doppia serie di 33 nervi spinali a disposizione metamERICA, che fuoriescono dal canale vertebrale attraverso i forami intervertebrali. Ogni nervo si forma per l'unione di due radici, una anteriore e una posteriore, che sono in rapporto con il midollo spinale.<sup>[6]</sup>

### 1.1.2 Tronco encefalico

Il tronco encefalico (TE) è costituito dal bulbo o midollo allungato, dal ponte (di Variolo) e dal mesencefalo.<sup>[6]</sup> (Fig.7)

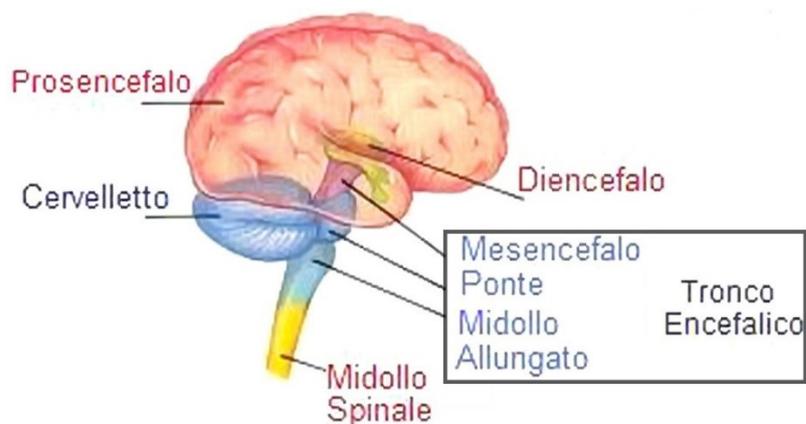


Fig.7 Struttura del Tronco encefalico

Il TE rappresenta la continuazione del midollo spinale e il piano di demarcazione tra i due organi si pone convenzionalmente all'altezza del grande foro occipitale, a livello dell'emergenza del primo nervo cervicale. Rostralmente il TE continua con il diencefalo, mentre dorsalmente al TE è appoggiato, con l'interposizione della fossa romboidale (o quarto ventricolo), il cervelletto che si connette al tronco mediante i tre peduncoli cerebellari, alla cui costituzione partecipano vari fasci nervosi.<sup>[6]</sup>

Il cervelletto viene classicamente considerato come un organo fondamentale per la regolazione del tono muscolare, la pianificazione e la coordinazione dei movimenti. Tuttavia, sta divenendo sempre più evidente il ruolo determinante del cervelletto nella realizzazione di processi cognitivi, aspetto che dà ragione delle numerosissime connessioni tra cervelletto e telencefalo che si realizzano compiutamente nei primati nell'uomo. Il cervelletto ha la forma di un grosso ovoide a maggior asse trasversale, schiacciato sull'asse verticale nel quale si possono riconoscere una faccia superiore e una inferiore, entrambe convesse e una stretta faccia anteriore corrispondente all'ilo.<sup>[6]</sup>

### 1.1.3 Cervello

Il cervello è racchiuso nella scatola cranica. Si tratta di uno degli organi più grandi e più complessi dell'organismo: al suo interno sono presenti numerose strutture e miliardi di nervi che comunicano attraverso innumerevoli connessioni. Le sue funzioni sono altrettanto numerose e variano dal controllo del respiro e di altre attività involontarie a quello dei movimenti volontari, passando per la generazione di pensieri ed emozioni.<sup>[6]</sup>

Il diencefalo, insieme al telencefalo, costituiscono il cervello. Esso è situato al centro dei due emisferi cerebrali che lo avvolgono quasi interamente, tanto che solo una piccola porzione del diencefalo affiora sulla superficie ventrale. All'interno del diencefalo si trova il terzo ventricolo, una fessura sagittale che lo divide in due metà simmetriche. Il diencefalo è separato dal mesencefalo da un piano che attraversa la commessura posteriore (sostanza bianca interposta tra i due emisferi), mentre il limite tra diencefalo e telencefalo è costituito da un piano passante per il forame di comunicazione tra il terzo ventricolo e i ventricoli laterali degli emisferi cerebrali. Il diencefalo, con le sue varie formazioni nucleari, partecipa a numerose funzioni. Per esempio, la sua formazione nucleare più voluminosa, il talamo, è la stazione dove tutte le vie sensitive (a eccezione di quelle olfattive e di quella ottica) trovano interruzione prima di raggiungere la corteccia cerebrale per una loro percezione cosciente. La parte ventrale del diencefalo, l'ipotalamo, è invece fondamentale nella regolazione delle ghiandole endocrine, dell'equilibrio idrosalino, della pressione arteriosa, della temperatura corporea

e di molte altre funzioni della vita vegetativa, che nell'insieme garantiscono l'omeostasi dell'organismo.<sup>[6]</sup>

Il diencefalo si apprezza all'esame macroscopico solo dopo un'ampia demolizione degli emisferi cerebrali; appare di forma piramidale tronca, con la base maggiore rivolta superiormente, in corrispondenza di una lamina connettivale molto vascolarizzata che copre il tetto del terzo ventricolo, e la base minore rivolta inferiormente. Le due facce laterali continuano con il telencefalo e sono costituiti da due grosse formazioni grigie ovalari che corrispondono al talamo, la cui faccia mediale rappresenta gran parte della parete laterale del terzo ventricolo.<sup>[6]</sup> (Fig.8)

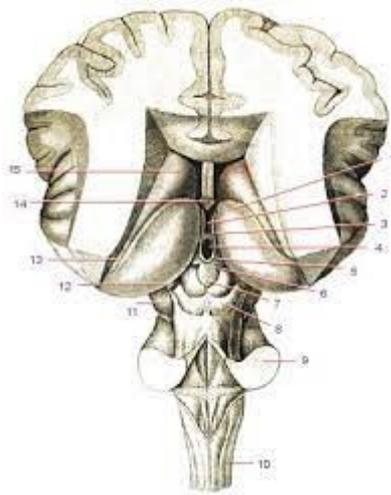


Fig.8 Tronco encefalico e diencefalo visti dorsalmente

Nel diencefalo si distinguono in senso dorso-ventrale cinque raggruppamenti nucleari: epitalamo, talamo, metatalamo, subtalamo e ipotalamo. Quest'ultimo in particolare ha uno stretto rapporto anatomico e funzionale con l'apparato endocrino. I neuroni parvocellulari dei nuclei mediale preottico, anteriore, soprachiasmatico, periventricolare, paraventricolare, arcuato, dorsomediale, ventromediale e premammillare inviano assoni allo strato esterno dell'eminenza mediana per formare il fascio tuberoinfundibolare che regola la secrezione dell'adenoipofisi attraverso un peculiare dispositivo vascolare, il sistema portale ipotalamo-ipofisario.<sup>[7]</sup>

Il telencefalo è formato in gran parte dai due emisferi cerebrali, la cui superficie è costituita dalla corteccia cerebrale. Al di sotto di questa si trova al centro semiovale formato da sostanza bianca, nella quale sono compresi i gangli o nuclei della base, indispensabili per l'esecuzione dei movimenti volontari. Gli emisferi cerebrali, per quanto fondamentalmente uguali quanto a struttura e organizzazione generale, presentano funzioni differenti. Le cortecce cerebrali dei due emisferi sono

in comunicazione l'una con l'altra mediante le fibre del corpo calloso e della commessura anteriore. Attraverso le fibre commessurali molte informazioni ricevute da un emisfero vengono trasferite anche all'altro; pertanto, la memoria delle esperienze vissute viene depositata in entrambi gli emisferi. Poiché la maggior parte delle informazioni sia sensitive sia motorie decorre attraverso vie nervose crociate, le funzioni dell'emisfero sinistro trovano corrispondenza nella metà destra del corpo e viceversa. L'analisi delle attività mentali superiori, svolta dalle aree associative mette in particolare evidenza come il flusso di informazioni sensoriali sia fondamentale nell'esecuzione del gesto motorio e degli stati emozionali che, a loro volta, influenzano la pianificazione motoria e l'immagazzinamento di tracce mnemoniche. Inoltre, le informazioni somestesiche, uditive e visive sono la base delle funzioni cognitive superiori svolte dall'area associativa sensoriale, mentre gli stimoli olfattivi e gustativi influenzano principalmente i comportamenti emozionali, motivazionali e vegetativi.<sup>[7]</sup> La superficie di ogni emisfero è irregolare per la presenza di solchi e scissure. Mentre i solchi sono incisure di scarsa profondità, che delimitano aree ristrette dette circonvoluzioni cerebrali, le scissure sono profonde invaginazioni della superficie che segnano il confine tra ampie aree emisferiche, i lobi, che convenzionalmente sono sei: frontale, parietale, temporale, occipitale, lobo dell'insula e lobo limbico.<sup>[7]</sup> (Fig.9)

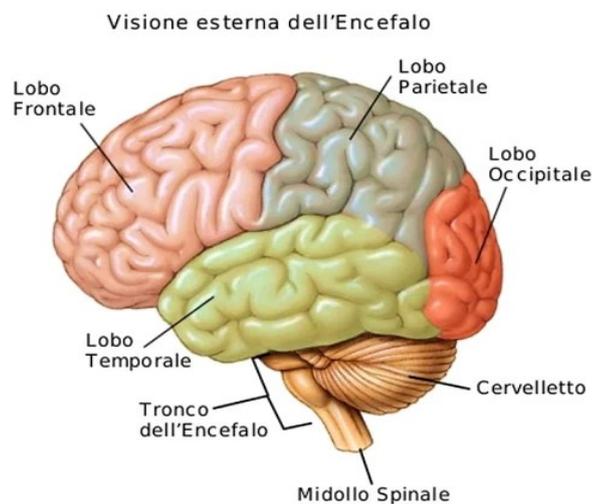


Fig.9 Visione esterna dell'encefalo

I lobi frontali sono associati alla flessibilità mentale, ai processi di apprendimento e al controllo del movimento. In particolare, la zona posteriore dei lobi frontali, detta corteccia motoria primaria, controlla il movimento dei vari distretti corporei. Sulla parte esterna del lobo frontale, davanti alla corteccia motoria primaria è situata la corteccia premotoria, deputata all'organizzazione e al controllo dei movimenti dei muscoli prossimali e del tronco. Il resto dei lobi frontali prende il nome di aree

associative frontali, e ha la funzione di riunire ed elaborare informazioni. Alcune aree associative, come l'area di Broca, sono coinvolte nell'elaborazione del linguaggio. La porzione anteriore del lobo frontale è detta corteccia prefrontale ed è implicata nel controllo di comportamenti complessi, nell'espressione della personalità e dei pensieri. I lobi parietali, situati sopra ai lobi occipitali, raccolgono le afferenze somatosensoriali di tutti i distretti corporei. La percezione tattile, di temperatura e di pressione sono rappresentate nella corteccia somatosensoriale primaria situata nei lobi parietali. I lobi temporali sono localizzati al di sotto dei lobi frontale e parietale. Sulla faccia laterale del lobo temporale è collocata l'area uditiva primaria, in cui vengono registrati i suoni in arrivo dalla via acustica centrale. Sul lobo temporale sinistro si trova un'area associativa, detta area di Wernicke, che è deputata alla comprensione del linguaggio. I lobi occipitali si trovano nella parte posteriore del cervello, e si estendono su tutte e tre le facce dell'emisfero (laterale, mediale e inferiore). Le aree della corteccia che si trovano nella faccia mediale sono coinvolte nella ricezione ed elaborazione delle informazioni visive.<sup>[7]</sup>

La corteccia cerebrale è la più importante parte del SNC e le diverse regioni che la compongono sono responsabili dei più importanti processi vitali quali ad esempio l'apprendimento, i movimenti volontari, la percezione. Essa costituisce la parte periferica degli emisferi cerebrali ed è caratterizzata da numerosi giri e solchi che ne incrementano così la superficie.<sup>[7]</sup>

I neuroni corticali possono essere classificati in due principali categorie: cellule piramidali e cellule non piramidali. Le cellule piramidali costituiscono la parte preponderante della corteccia cerebrale, proiettano lunghi assoni ad altre regioni all'interno dell'area, tramite collaterali assoniche che decorrono anche per molti millimetri (mm) in piani paralleli agli strati corticali. Possiedono un corpo di forma triangolare con la base rivolta verso il basso e l'apice diretto verso la superficie della corteccia, risultando disposti in modo perpendicolare alla superficie stessa della corteccia. (Fig.10)

Le cellule non piramidali sono caratterizzate da forma ovale e in genere i loro assoni non lasciano la corteccia, ma terminano su neuroni vicini. Il loro orientamento spaziale rispetto alla corteccia non è ordinato come per le cellule piramidali: alcuni sono orientati orizzontalmente altri verticalmente.<sup>[7]</sup>

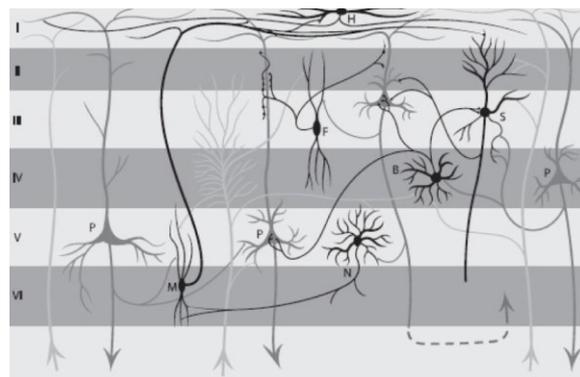


Fig.10 Cellule piramidali posizionate perpendicolarmente alla superficie della corteccia

Nel 1909 Brodmann valutò la distribuzione degli strati neuronali in tutta la corteccia cerebrale e caratterizzò così ben 52 aree corticali differenti, numerandole progressivamente. Solo molti anni dopo è stata descritta la sede corticale di molte funzioni ed è stato confermato che i confini di queste zone spesso coincidono con quelle delle aree descritte da Brodmann.<sup>[7]</sup> (Fig.11)

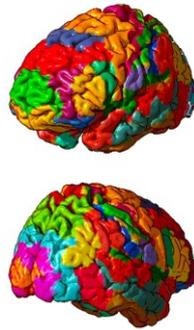


Fig.11 Aree di Brodmann

Schematicamente si possono riconoscere le seguenti aree cerebrali principali: 1) aree sensitive primarie e motorie primarie; 2) aree sensitive secondarie e motorie secondarie; 3) aree associative.<sup>[7]</sup> (Fig.12)

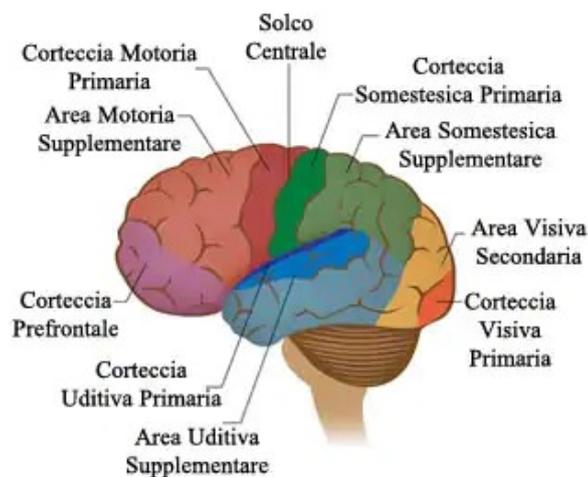


Fig.12 Mappa della corteccia cerebrale che illustra la localizzazione delle aree funzionali

Nelle aree sensitive primarie ha luogo la percezione cosciente degli stimoli elementari: in alcune di esse si proiettano dal talamo le informazioni relative alla sensibilità generale somatica; in altre si proiettano le vie specifiche: ottiche, acustiche, gustative e olfattive. L'area sensitiva primaria più estesa è quella per la sensibilità somatica generale, localizzata nella circonvoluzione post-centrale del

lobo parietale e corrispondente alle aree 3 (area motoria, controllo dei movimenti volontari), 1 (area prefrontale addetta alle funzioni mentali superiori), 2 (area premotoria riservata all'orientamento e controllo dei movimenti della testa e degli occhi) di Brodmann. Dal punto di vista strutturale quest'area presenta una tipica corteccia a sei strati, in cui è molto sviluppato quello granulare. In essa è possibile riconoscere una rappresentazione somatotipica della periferia. Ciò significa che la sensibilità somatica di parti diverse del corpo viene proiettata in territori della circonvoluzione postcentrale ben precisi e distinti, la cui estensione corticale è proporzionale alla ricchezza di innervazione del territorio sensitivo periferico, ma non alla sua estensione. Si può così disegnare un diagramma, detto homunculus sensitivus (Fig.13), cioè la rappresentazione del corpo a livello di quest'area che è una sorta di caricatura della figura umana in quanto, come si è detto, l'estensione delle varie parti corporee è proporzionale all'entità della loro innervazione ma non alla loro reale estensione.<sup>[7]</sup>

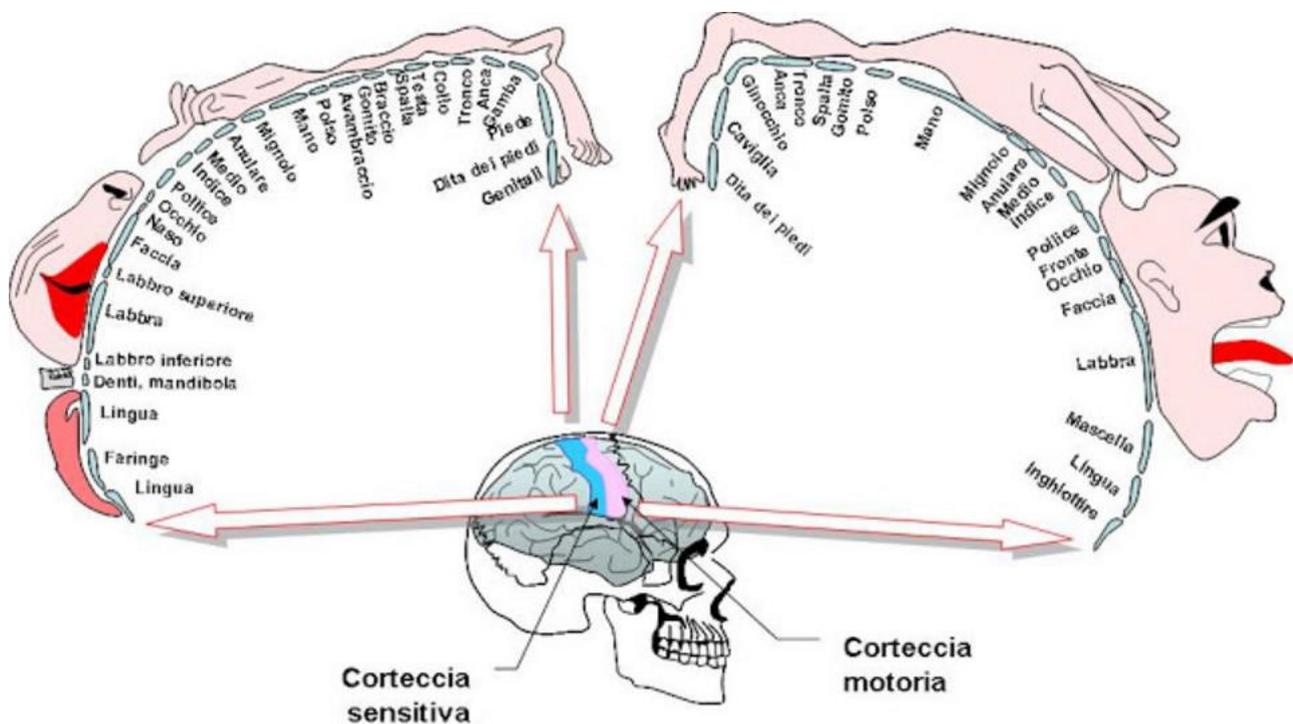


Fig.13 Nella porzione sinistra dell'immagine vi è rappresentato l'homunculus sensitivo della corteccia sensitiva primaria, mentre nella porzione destra vi è l'homunculus motorio della corteccia motoria primaria

Per l'importanza funzionale che svolge, il SNC deve essere adeguatamente protetto dai traumi. La protezione più importante è rappresentata dalla colonna vertebrale per il midollo e dalla scatola cranica per l'encefalo. Per impedire, però, traumi della sostanza nervosa contro gli stessi involucri

ossei, il SNC risulta avvolto da membrane connettivali, le meningi, da un cuscinetto di liquido chiamato liquido cerebrospinale ed eventualmente di grasso che riempie gli spazi fra le suddette membrane e la teca ossea. Il liquido cerebrospinale è un liquido trasparente contenente sali (principalmente cloruro di sodio), glucosio e una piccola quantità di proteine e linfociti. Esso permette la diffusione di sostanze nutritive dal sangue al tessuto nervoso, oltre alla rimozione da quest'ultimo dei cataboliti.<sup>[7]</sup>

Il midollo spinale è vascolarizzato dalle arterie spinali anteriore e posteriore che, originate dall'arteria vertebrale, si portano inferiormente lungo il midollo. Questi vasi si anastomizzano fra loro e con altre arterie che vascolarizzano il midollo: arterie cervicali ascendente e profonda, arterie intercostali posteriori, arterie lombari e arteria sacrale laterale. L'encefalo, invece, riceve sangue dall'arteria carotide interna e dall'arteria vertebrale. La prima si fa intracranica attraversando il canale carotico dell'osso temporale e si risolve nelle arterie oftalmica, cerebrale anteriore, cerebrale media, comunicante posteriore e carotidea anteriore, partecipando quindi indirettamente alla formazione del poligono anastomotico di Willis. L'arteria vertebrale, originata dall'arteria succlavia, attraversa i fori dei processi trasversi delle prime sei vertebre cervicali e diviene intracranica dopo aver attraversato il grande foro occipitale. Le due arterie vertebrali confluiscono nell'arteria basilare, impari, che decorre sulla faccia ventrale del ponte e dà origine alle due arterie cerebrali posteriori, che partecipano alla costituzione del poligono di Willis. La comunicazione fra il sistema della carotide interna e quello dell'arteria vertebrale dei due lati, in corrispondenza del poligono di Willis, offre il vantaggio di una migliore distribuzione del flusso ematico e fornisce percorsi alternativi nel caso di occlusione di un'arteria afferente al poligono stesso.<sup>[7]</sup> (Fig.14)

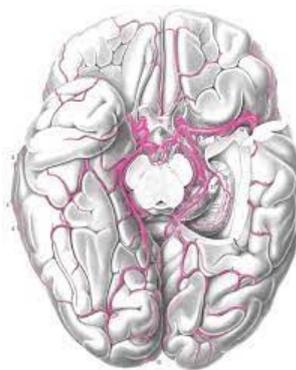


Fig.14 Vascolarizzazione del SNC

Il sistema venoso dell'encefalo non è satellite di quello arterioso. Inizia con piccoli vasi che si portano negli spazi subaracnoidei e confluiscono in vene maggiori che sboccano infine nei seni della dura madre, mentre, tutto il sangue venoso fuoriesce dal cranio tramite le due vene giugulari interne.<sup>[7]</sup>

## 1.2 Sistema nervoso periferico

Il SNP rappresenta l'insieme delle cellule e delle fibre nervose che si trovano all'esterno della scatola cranica e del canale vertebrale. Il SNP è rappresentato dai nervi spinali, dei nervi encefalici, dai gangli annessi e dai recettori e organi di senso. Costituisce infine parte del SNP anche il sistema nervoso simpatico, che rappresenta quella parte del sistema nervoso deputata alla regolazione delle funzioni viscerali che normalmente sfuggono al controllo della volontà, come il controllo della muscolatura liscia dei vasi e dei diversi visceri, la secrezione ghiandolare e il controllo della frequenza cardiaca. Dal punto di vista morfologico si considerano in ogni nervo un'origine apparente un'origine reale. La prima è rappresentata dal punto dal quale il nervo stesso emerge dal TE o dal midollo spinale. L'origine reale rappresenta invece la sede dove si trovano i corpi cellulari che danno origine alle fibre che costituiscono il nervo. Si considera inoltre per ogni nervo il tragitto che questo compie per portarsi al di fuori della scatola cranica o del canale vertebrale.<sup>[7]</sup> (Fig.15)

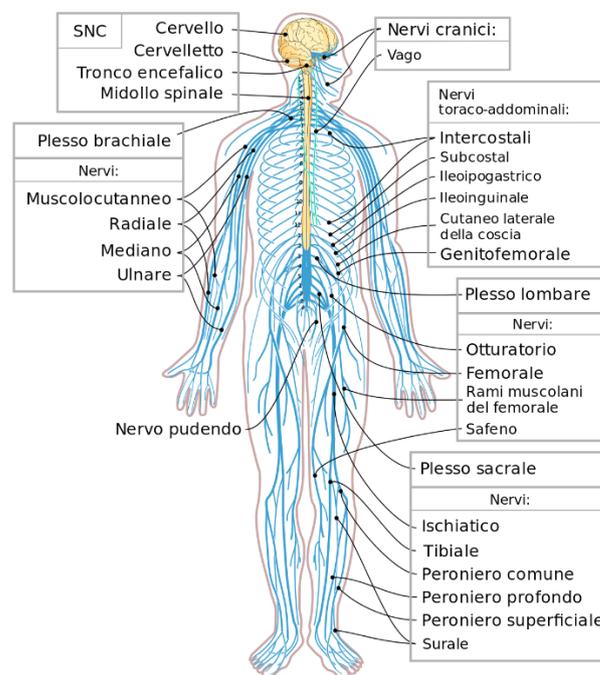


Fig.15 Nervi del SNP

Per quanto concerne la composizione, si definiscono nervi motori o effettori quelli che dal centro trasmettono alla periferia impulsi in grado di produrre una risposta. Se tali fibre terminano in un muscolo volontario vengono definiti nervi motori somatici, se terminano sulla muscolatura liscia involontaria vengono definiti nervi motori viscerali. I nervi sensitivi sono costituiti da fibre che

raccogliono stimoli dalla periferia per convogliarli verso l'asse nervoso. Si distinguono in nervi sensitivi somatici e nervi sensitivi viscerali. Questi ultimi raccolgono impulsi dai diversi organi o apparati. Nell'ambito dei nervi sensitivi somatici si distinguono fibre che trasportano impulsi della sensibilità generale (pressione, temperatura, dolore) e della sensibilità specifica raccolta dagli organi di senso specializzati (vista, udito, equilibrio, olfatto, gusto). I nervi spinali sono tutti indicati come misti in quanto formati nella porzione più vicina al midollo spinale, tanto da fibre effettrici quanto da fibre sensitive. Essi però, a distanza varia dal midollo spinale tendono a separarsi nei diversi contingenti, talora confluenndo con contingenti di altri nervi (plessi). I nervi encefalici (cranici) non sono invece tutti misti, ma sono costituiti da fibre di diversa natura secondo il nervo considerato. Dal punto di vista dei contingenti di provenienza si considerano infine nervi esteroceettori, nervi propriocettori, che raccolgono informazioni dall'apparato locomotore, e nervi enteroceettori, che raccolgono informazioni dai visceri.<sup>[7]</sup>

I nervi encefalici (o cranici) sono 12 paia e la loro numerazione avviene in senso antero-posteriore. Ogni nervo encefalico, oltre che dal numero, è contrassegnato da un nome che ne identifica la funzione o la distribuzione. A eccezione dei primi due, olfattivo e ottico, che appartengono rispettivamente al telencefalo e al diencefalo, e non sono veri nervi, avendo una costituzione del tutto particolare, gli altri dieci emergono dalle diverse parti del TE. In particolare, il nervo olfattivo è esclusivamente sensitivo, deputato alla trasmissione degli stimoli olfattivi. L'origine reale del nervo olfattivo è nelle cellule olfattive situate nell'epitelio della mucosa olfattiva, che riveste la volta delle cavità nasali oltre a una piccola parte del cornetto superiore e della porzione superiore del setto. Le fibre originate dalle cellule olfattive si organizzano a formare i filamenti del nervo. Questi, attraversata la lamina cribrosa dell'etmoide, entrano nella cavità cranica dove continuano nel bulbo olfattivo. L'ingresso di tali fibre nel bulbo olfattivo rappresenta l'origine apparente del nervo.<sup>[7]</sup>

Le vie nervose afferenti della sensibilità gustativa sono costituite da fibre del nervo glossofaringeo (IX nervo cranico), e da fibre della chorda tympani, ramo del nervo facciale (VII nervo cranico). I corpuscoli gustativi dell'epiglottide e della faringe sono innervati da fibre del nervo vago che originano dal ganglio nodoso. Ciascuna fibra nervosa innerva più di un bocciolo gustativo; inoltre, nell'ambito dello stesso bocciolo gustativo ogni fibra può innervare più cellule recettrici. Tutte le fibre nervose gustative raggiungono il bulbo per confluire nel nucleo del tratto solitario, il quale rappresenta il primo importante centro di integrazione della sensibilità gustativa. Le fibre gustative del facciale e quelle del glossofaringeo terminano nella parte superiore di questo nucleo; le fibre gustative del vago nella parte inferiore. Nell'uomo, la maggior parte dei neuroni gustativi del nucleo del tratto solitario si pone in connessione tanto con il nucleo posteromediale del talamo quanto con il

giro postcentrale della corteccia cerebrale. Queste connessioni sono determinanti per la percezione gustativa e il riconoscimento dei sapori.<sup>[7]</sup>

Il più voluminoso dei nervi encefalici è il nervo trigemino, possiede una componente motrice somatica e ambedue le componenti sensitive, somatica e viscerale. La componente sensitiva è di gran lunga prevalente su quella motrice, raccogliendo la sensibilità generale della testa, della faccia e delle meningi encefaliche. Il nervo trigemino ha origine a livello del ponte di Varolio e si suddivide, poco dopo il punto d'emergenza, in tre grosse divisioni (o branche): il nervo oftalmico, il nervo mascellare e il nervo mandibolare. Il nervo oftalmico e il nervo mascellare ricoprono un ruolo esclusivamente sensitivo, mentre il nervo mandibolare possiede sia fibre nervose sensitive sia fibre nervose motorie.<sup>[7]</sup>

## Capitolo 2 **ELETTROENCEFALGRAMMA**

### 2.1 Origine del segnale elettroencefalografico

Nel 1870 Richard Caton fu il primo in grado di registrare l'attività elettrica del cervello di alcuni animali e le sue modificazioni in relazione agli stati di sonno, veglia, anestesia e morte; per questo è riconosciuto come lo scopritore del segnale EEG. Diversi anni dopo, nel 1924 Hans Berger registrò per la prima volta le forme d'onda del segnale elettrico cerebrale applicando degli elettrodi sullo scalpo umano. Durante i suoi studi, Berger aveva osservato che le varie forme d'onda dei segnali registrati erano differenti sia a seconda della posizione di registrazione sullo scalpo, sia tra soggetti sani e patologici e che le varie forme d'onda erano dipendenti dallo stato mentale del soggetto (attenzione, rilassamento, sonno). L'esperimento di Berger gettò le basi dell'attuale elettroencefalografia, una delle tecniche più largamente utilizzate per la misura dell'attività elettrica nel cervello.<sup>[8]</sup>

L'EEG è una misura del flusso di corrente extracellulare che viene generato dalla somma delle attività di un elevato numero di neuroni, in particolare registra variazioni del campo elettrico generato da gruppi di neuroni piramidali. Il contributo elettrico del singolo neurone corticale non può essere misurato sullo scalpo a causa dell'attenuazione provocata dai tessuti (fluidi, ossa, pelle) interposti tra la sorgente (la corteccia) e l'area di rilevazione (l'elettrodo). Il segnale EEG, perciò, riflette la somma delle attività elettriche di milioni e milioni di neuroni che hanno una orientazione spaziale simile. Data l'organizzazione corticale e la struttura intrinseca dei neuroni piramidali, la loro attivazione simultanea genera campi elettrici aperti che, se sincroni, si sommano generando un segnale più intenso e rilevabile dagli elettrodi sullo scalpo. Le attività elettriche descritte dai tracciati EEG derivano quasi totalmente da potenziali post-sinaptici (eccitatori e inibitori) e non dai potenziali d'azione, sebbene questi ultimi siano i più ampi potenziali generati dai neuroni. Ciò è dovuto alla loro breve durata, dell'ordine di 1 ms, a differenza dei potenziali postsinaptici che nonostante la loro minore ampiezza, sono più lenti e quindi possono sommarsi più efficacemente.<sup>[8]</sup>

### 2.2 Metodo di acquisizione del segnale

L'EEG misura la differenza di potenziale presente tra un elettrodo attivo, posto al di sopra della sede dove si svolge l'attività neuronale, ed un elettrodo di riferimento, collocato ad una certa distanza dal primo. La registrazione dell'attività elettrica corticale tramite EEG garantisce numerosi vantaggi in

quanto è una tecnica non invasiva, i costi degli hardware sono significativamente bassi e permette un'alta risoluzione temporale, nell'ordine dei millisecondi (ms).<sup>[8]</sup> (Fig.16)

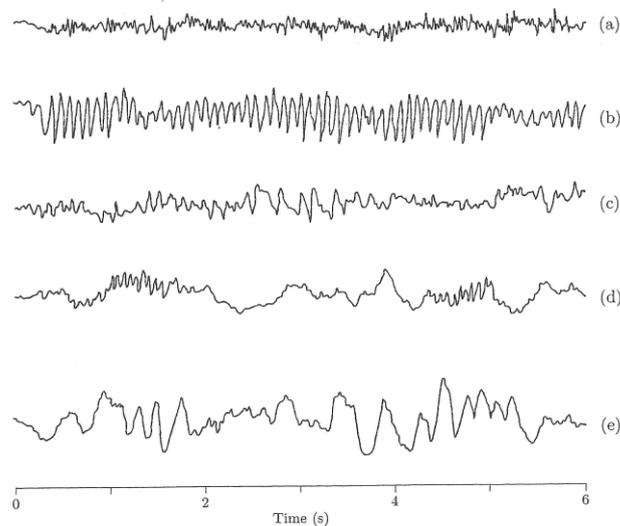


Fig.16 Ritmi EEG osservati durante vari stati di coscienza: (a) eccitazione, (b) relax, (c) sonnolenza, (d) sonno, (e) sonno profondo

A fronte dell'ottima risoluzione temporale, l'EEG non ha una buona risoluzione spaziale che consenta una corretta localizzazione delle sorgenti elettriche corticali. Essa, infatti, è nell'ordine circa del centimetro quadro ( $\text{cm}^2$ ) e corrisponde all'attività media di circa dieci milioni di neuroni corticali.<sup>[8]</sup> Gli artefatti riscontrabili in un tracciato EEG possono essere classificati in base alla sorgente principale che li causa: il soggetto o la tecnologia. Gli artefatti soggetto-dipendenti derivano da qualsiasi piccolo movimento del corpo, movimento degli occhi, dalla sudorazione. (Fig.17) Gli artefatti tecnologia-dipendenti riguardano le componenti a 50-60 Hz, le fluttuazioni di impedenza, il movimento dei cavi e il materiale usato come gel conduttore tra gli elettrodi e lo scalpo.<sup>[8]</sup>

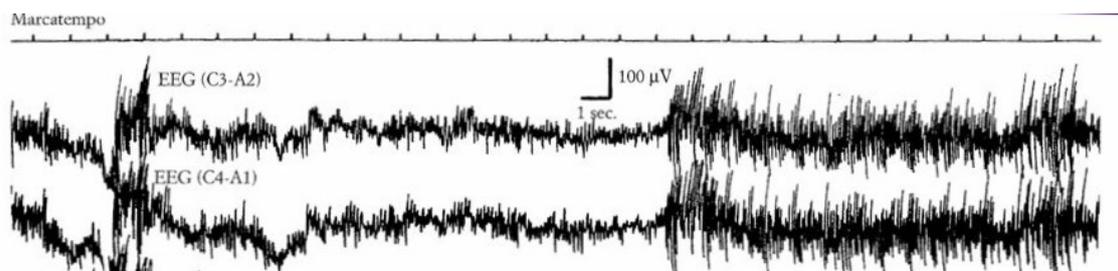


Fig.17 Segnale EEG presentante artefatti di movimento

### 2.3 Elettroencefalografo

L'elettroencefalografo è costituito da elementi base che comprendono elettrodi con mezzi di conduzione, amplificatori e filtri, un convertitore analogico–digitale e un dispositivo di registrazione.<sup>[9]</sup> (Fig.18)

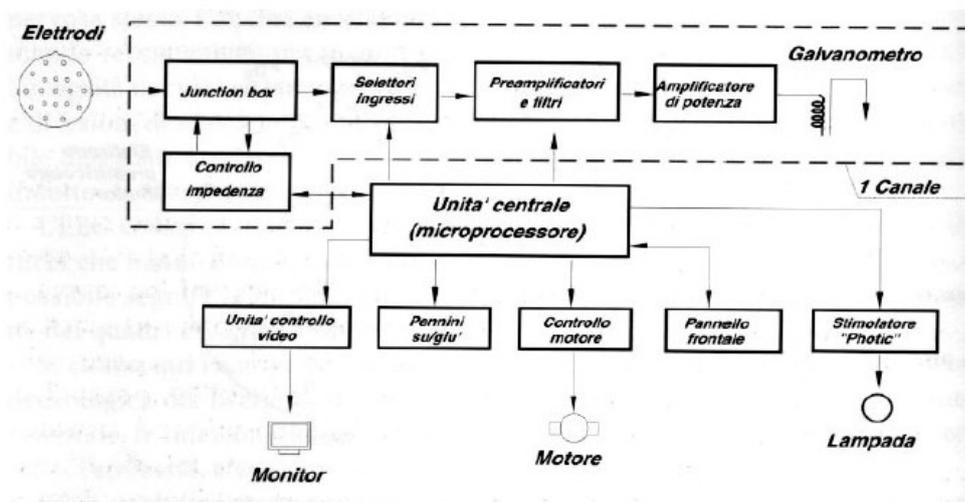


Fig.18 Schema a blocchi di un elettroencefalografo

La scelta degli elettrodi impiegati nell'acquisizione è fondamentale per la qualità dei dati ottenuti. Spesso gli elettrodi sono in oro o argento e possono essere di diverse forme: a disco, placchette fissate mediante una cuffia ad aghi ipodermici inseriti sottocute o elettrodi a base di soluzione salina. Convenzionalmente l'attività elettrica cerebrale è registrata tramite elettrodi per biopotenziali posizionati sulla testa o nelle orecchie. Poiché gli strati più esterni dello scalpo sono tipicamente cattivi conduttori, è bene che i capelli siano puliti e privi di gel o lacca. Inoltre, è necessario preparare la cute prima di applicare gli elettrodi; tale preparazione consiste in una prima fase di pulizia della regione di interesse tramite un'apposita pasta abrasiva, seguita dall'applicazione dell'elettrodo tramite gel o soluzione elettrolitica. Questa ha il duplice scopo di creare un contatto ottimale elettrodo-cute, favorendo la conduzione del segnale e di mantenere un'adesione costante fra elettrodo e pelle, riducendo gli artefatti da movimento. La presenza di un elettrolita è estremamente importante, in quanto le cariche elettriche non sono in grado di muoversi direttamente da un tessuto biologico a un metallo; la coppia di elettrodi funge quindi da trasduttore di segnali elettrici tra un mezzo a conduzione ionica (la soluzione elettrolitica) ed un mezzo a conduzione elettronica (il conduttore metallico). Gli elettrodi sono collegati a un amplificatore differenziale con alta impedenza di ingresso. Lo scopo di questi amplificatori è quello di amplificare il voltaggio rilevato dalla differenza di

potenziale tra l'elettrodo attivo e quello di riferimento, dell'ordine dei microvolt ( $\mu\text{V}$ ), di circa 1000 volte per poter visualizzare il segnale.<sup>[9]</sup>

Un componente di interesse collegato al microprocessore dell'elettroencefalografo è lo stimolatore "photic". Quest'ultimo permette di ottenere un tracciato dell'attività elettrica del paziente soggetto a una determinata stimolazione. Lo stimolo controllato col microprocessore può essere sincronizzato in accordo col tracciato al fine di vedere in che modo il paziente reagisce allo stimolo di tipo ottico, acustico o testuale. Un particolare protocollo utilizzato in questo tipo di analisi è il Rapid Serial Visual Presentation (RSVP). Il soggetto, in questo metodo, è incaricato di segnalare uno stimolo ottico in un punto del suo campo visivo, che possiede caratteristiche che lo diversificano dal resto della sequenza di immagini proiettate.<sup>[9]</sup>

Per ridurre gli artefatti, il segnale viene filtrato successivamente con un filtro analogico passa alto e uno passa basso con frequenze di taglio a 0.5-1 Hz e 35-70 Hz rispettivamente. Per filtrare le componenti spettrali dovute dalla rete a 50 Hz viene utilizzato un filtro notch. Il segnale viene ulteriormente amplificato attraverso un amplificatore a guadagno prima di essere digitalizzato per mezzo di un convertitore analogico-digitale, memorizzato e visualizzato.<sup>[9]</sup>

Una coppia di elettrodi può essere posizionata secondo derivazioni monopolari o bipolari a seconda degli specifici requisiti sperimentali. Nella derivazione monopolare un elettrodo viene posto sull'area elettricamente attiva, mentre l'altro (elettrodo di riferimento) in un sito elettricamente neutro (per esempio il lobo dell'orecchio). La registrazione monopolare evidenzia il livello assoluto di attività elettrica sottostante il sito attivo e viene utilizzata principalmente per prelevare i segnali provenienti dalle zone più profonde del cervello. Nella derivazione bipolare, invece, entrambi gli elettrodi sono posti su siti attivi dell'area di interesse. Il segnale così misurato rappresenta l'attività proveniente dagli strati esterni della corteccia, in quanto i potenziali generati da sorgenti più profonde vengono considerati di modo comune dall'amplificatore differenziale.<sup>[9]</sup>

### 2.3.1 Metodologie posizionamento elettrodi

Nell'EEG convenzionale la registrazione è ottenuta applicando elettrodi sullo scalpo usando un gel conduttore, nella maggior parte delle applicazioni sono usati 19 elettrodi più uno di riferimento a massa con configurazione tipicamente bipolare. L'esatta disposizione degli elettrodi sullo scalpo è regolata dal sistema internazionale 10/20, un metodo standardizzato sviluppato alla fine degli anni '40. Il sistema 10-20 prevede il posizionamento degli elettrodi secondo linee ideali (linea sagittale antero-posteriore, mediale e laterale; linea coronale frontale, centrale e parietale) tracciate a partire da punti di repere fissi: l'inion (protuberanza esterna dell'osso occipitale), il nasion (piccola

depressione immediatamente al di sopra del naso) e i punti preauricolari. La distanza tra un elettrodo e l'altro è sempre il 10% o il 20% della lunghezza totale della linea, da cui il nome del sistema.<sup>[9]</sup> Ciascuna posizione dell'elettrodo viene denominata utilizzando una lettera e un numero (o una seconda lettera). La lettera si riferisce alla regione della corteccia sottostante (Fp = frontopolare, F = frontale, C=centrale, T=temporale, P=parietale e O=occipitale), i numeri indicano la lateralizzazione (i pari sull'emisfero destro, i dispari sul sinistro), mentre la lettera z individua la posizione sulla linea mediana. Complessivamente, quindi, il sistema 10-20 comprende 19 siti, 8 sul lato sinistro, 8 sul lato destro e 3 centrali.<sup>[9]</sup> (Fig.19)

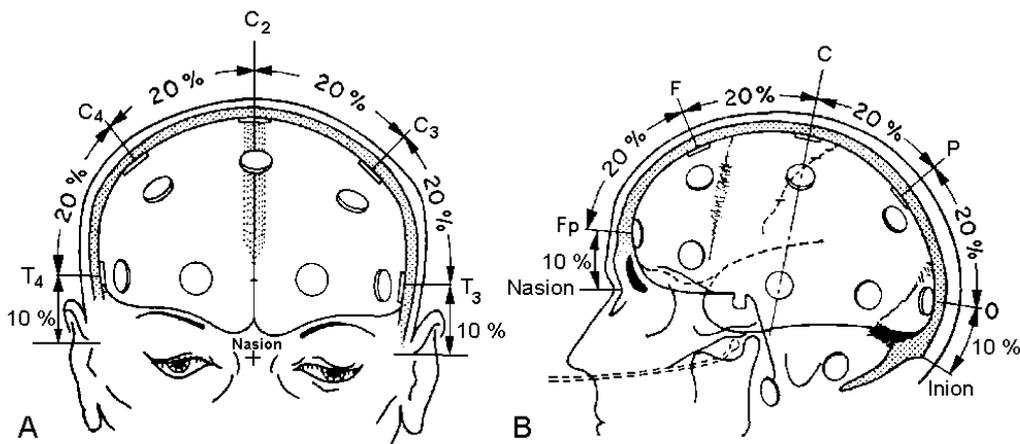


Fig.19 Posizione degli elettrodi nel sistema 10-20

#### 2.4 Caratterizzazione dell'elettroencefalogramma

Il segnale EEG viene caratterizzato in base a: ampiezza, morfologia, topografia, simmetria/asimmetria e sincronia/asincronia.<sup>[10]</sup>

L'ampiezza di un segnale EEG può variare tra 10 e 500  $\mu\text{V}$ . In genere, si definiscono: segnali a bassa ampiezza quei segnali con ampiezza inferiore a 30  $\mu\text{V}$ , segnali a media ampiezza quei segnali con ampiezza compresa tra 30 e 70  $\mu\text{V}$  e segnali ad alta ampiezza quei segnali con ampiezza superiore a 70  $\mu\text{V}$ .<sup>[10]</sup>

Un segnale EEG può presentare caratteristiche di polimorfismo oppure di monomorfismo. Per polimorfismo si intende la successione di potenziali appartenenti alla stessa banda di frequenza, ma che si presentano con periodicità non regolare e con un'ampiezza spesso diversa da una componente all'altra. Invece per monomorfismo si intende la successione regolare di potenziali aventi esattamente la stessa frequenza e spesso anche la stessa ampiezza.<sup>[10]</sup>

Per topografia si intende la definizione delle aree cerebrali in cui un evento elettrico si manifesta. La topografia viene identificata facendo riferimento alla classica distinzione anatomica degli emisferi cerebrali in lobo frontale, parietale, occipitale e temporale di destra e di sinistra.<sup>[10]</sup>

Inoltre, due segnali EEG possono essere simmetrici oppure asimmetrici. Si definiscono simmetrici quei segnali che si presentano su entrambi gli emisferi (anche se in tempi successivi) e che presentano le stesse caratteristiche di frequenza, ampiezza e durata. Invece, sono asimmetrici quei segnali che si verificano solo a carico di un emisfero o, se bilaterali presentano caratteristiche diverse sui due lati. Per quanto riguarda la sincronia, essa riguarda il momento di comparsa di determinati eventi elettroencefalografici. Si definiscono sincroni quegli eventi che si verificano contemporaneamente sui due lati; per contro sono asincroni quegli eventi che si verificano in tempi diversi.<sup>[10]</sup>

I ritmi EEG principali sono stati identificati attraverso l'esperienza clinica e di ricerca, e gli intervalli di frequenza associati sono stati individuati successivamente.<sup>[10]</sup> (Fig. 20)

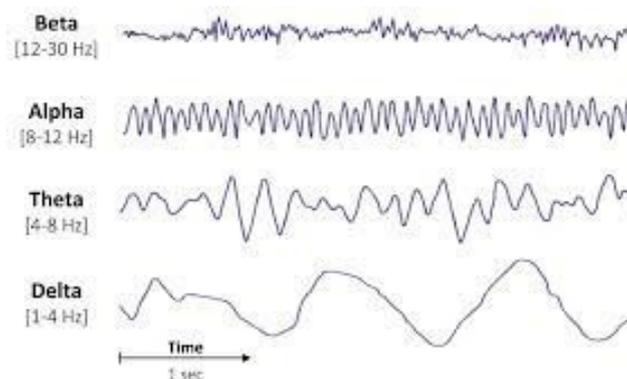


Fig.20 Ritmi EEG in base alla loro frequenza

È importante non identificare arbitrariamente qualsiasi ritmo EEG basandosi unicamente sulla sua frequenza apparente; altri fattori che devono essere tenuti in considerazione sono la posizione e il comportamento della componente così come lo stato del paziente.<sup>[11]</sup>

Delta è il più lento dei ritmi EEG e generalmente presenta una frequenza di 1-3 Hz; il segnale elettroencefalografico è associato a stati di sonno non-REM o di incoscienza. Ad occhio, l'onda delta è raramente, se non mai, sinusoidale. Piuttosto tende ad avere un distintivo andamento sconnesso. Una piccola quantità di delta è normale, tuttavia, l'eccesso di delta può apparire sia localmente che globalmente. Il ritmo delta concentrato è associato a lesioni localizzate o a traumi, mentre l'eccesso di delta globale indica tossicità, patologia generalizzata, invecchiamento, o altri problemi sistemici. Poiché riflette generalmente lesioni o disfunzioni, l'eccesso di ritmi delta focalizzati è spesso associato al mancato funzionamento delle zone colpite.<sup>[11]</sup>

Il ritmo theta (tipicamente 4-7 Hz) è un ritmo mediato da meccanismi subtalami e, come delta, tende ad avere un caratteristico aspetto non sinusoidale. Una certa quantità di theta è normale, in particolare nelle aree frontali, dove può essere associata a volontà e movimento. Nonostante l'associazione di theta alla disattenzione ed al pensiero interiorizzato, va riconosciuto che tale ritmo è associato anche

a pensieri creativi e al recupero della memoria. Pertanto, poiché può verificarsi a livelli moderati anche in un cervello vigile, non dovrebbe essere considerato come un ritmo intrinsecamente "cattivo" che deve sempre essere minimizzato.<sup>[11]</sup>

L'onda alfa è talvolta definita come ritmo "8-12 Hz". Il ritmo alfa è un ritmo di riposo del sistema visivo, massimo posteriormente, che aumenta quando gli occhi si chiudono, e che ha un tipico andamento crescente e calante. Tutte queste caratteristiche derivano dal fatto che alfa è un riverbero talamo-corticale che coinvolge le vie ottiche e la corteccia visiva primaria, che rappresenta il rilassamento del sistema visivo e che svolge anche alcuni tipi di scansione della memoria. Un individuo è tipicamente consapevole, ma rilassato, durante intervalli alfa. La frequenza effettiva di alfa può variare al di fuori della gamma 8-12 Hz, ed altre componenti possono presentarsi in questo intervallo. Pertanto, un segnale la cui frequenza è nell'intervallo 8-12 Hz non è necessariamente un'onda alfa. Un aspetto importante per quanto riguarda alfa, è la presenza di due intervalli fondamentalmente diversi. La gamma di onde alfa veloci, compresa tra 10 e 12 Hz, rappresenta il tipico ritmo occipitale a riposo, il quale riflette l'elaborazione della memoria di fondo ed uno stato inattivo, ma non disattento. Le onde alfa lente, tipicamente comprese fra 8-10 Hz, appaiono più frontalmente e sono maggiormente associate all'elaborazione emotiva. È interessante a questo proposito notare che il ritmo alfa può rallentare con l'età; mentre un rallentamento significativo dei ritmi alfa è associato al degradamento dell'elaborazione mentale, un rallentamento generale con l'età può indicare che avviene una maggiore elaborazione alle estremità del circuito talamo-corticale.<sup>[11]</sup>

Le onde beta (15-20 Hz) sono quelle più comunemente associate al pensiero cosciente ed intenzionale. Quando presenti, indicano attivazione cerebrale e comunicazione cortico-corticale. Poiché le connessioni cortico-corticali che mediano beta tendono ad essere tra siti vicini, beta tende ad essere più localizzata rispetto ai ritmi a frequenza più bassa. Le onde beta alte (in genere 20-30 Hz) sono tipiche di stati ansiosi e agitazione.<sup>[11]</sup>

Le onde gamma sono onde veloci (35-45 Hz), individuate in epoca più recente rispetto alle altre e quindi ad oggi conosciute in modo meno approfondito; non sono infatti facili da registrare a causa della loro ridottissima ampiezza. Sono riscontrabili in momenti di massima performance (fisica e mentale) e profonda concentrazione.<sup>[11]</sup>

## 2.5 Analisi del segnale elettroencefalografico

Il metodo di analisi automatica impiegato per caratterizzare le oscillazioni presenti nel tracciato EEG e quindi poter rivelare lo stato in cui si trova il soggetto è chiamata in letteratura analisi spettrale. La parola spettro indica l'insieme delle oscillazioni del segnale EEG presenti nello stesso alle diverse

frequenze. In particolare, si definisce spettro di un segnale EEG il grafico che mostra per un dato segnale EEG la sua composizione in termini di oscillazioni alle diverse frequenze. Le frequenze del segnale EEG variano da 1 o 2 oscillazioni al secondo (1-2 Hz) fino a 40 oscillazioni al secondo (40 Hz). La suddivisione dei ritmi EEG avviene sulla base dell'intervallo di frequenze entro cui variano.<sup>[11]</sup>

La trasformata di Fourier veloce (FFT) è il metodo più comune di analisi in frequenza di segnali campionati e costituisce la base di molti metodi avanzati. È un efficiente algoritmo computazionale progettato per trasformare velocemente il segnale e visualizzarlo in tempo reale. Matematicamente la trasformata di Fourier, di cui la FFT è un'implementazione, è un operatore che permette di scomporre un segnale generico in una somma infinita di sinusoidi di frequenze, ampiezze e fasi diverse in modo tale da vedere quanto di ogni frequenza è presente nel segnale. L'insieme di valori in funzione della frequenza (componenti in frequenza), continuo o discreto, prende il nome di spettro di ampiezza. Quando si esegue un'analisi FFT il segnale campionato è ulteriormente suddiviso in "epoche" (finestre temporali) di una certa durata fissa, tipicamente di uno o due secondi. La dimensione della finestra (o epoca) è un fattore importante in quanto determina la frequenza più bassa che può essere rilevata dall'analisi matematica. La frequenza della FFT è pari all'inverso della dimensione dell'epoca. La più alta frequenza rilevabile è pari ad  $1/2$  della frequenza di campionamento. Si noti che la frequenza di campionamento non equivale alla frequenza della FFT; la frequenza di campionamento è la frequenza con la quale vengono raccolti i dati mentre la frequenza della FFT è un indicatore di quanto spesso l'operazione matematica viene eseguita sui punti campionati. I limiti della frequenza di campionamento e della lunghezza della finestra temporale sono assoluti e si basano su principi matematici.<sup>[11]</sup>

## Capitolo 3 COVID-19 E SUE COMPLICANZE A CARICO DEL SISTEMA NERVOSO

### 3.1 Struttura del virus SARS-CoV-2

Il Sars-CoV-2 è un ceppo virale facente parte del genere  $\beta$ -coronavirus ( $\beta$ -Cov), sottogenere Sarbecovirus e sottofamiglia dei Coronavirus (Orthocoronavirinae). I coronavirus (CoV) sono una vasta famiglia di virus chiamati così per le punte a forma di corona che hanno le proteine superficiali (“Spike”) del virus e sono distinti in quattro generi:  $\alpha$ - /  $\beta$ - /  $\gamma$ - /  $\delta$ -CoV; le prime due tipologie  $\alpha$ - e  $\beta$ -CoV sono in grado di infettare i mammiferi mentre  $\gamma$ - e  $\delta$ -CoV tendono a contagiare gli uccelli. In precedenza, sei CoV tra cui  $\alpha$ -CoV, HCoV-229E, HCoV-NL63,  $\beta$ -CoV, HCoV-HKU1 e HCoV-OC43 sono stati identificati come virus suscettibili all'uomo, ciononostante sono tutti artefici di lievi sintomi respiratori simili a un comune raffreddore. Gli altri  $\beta$ -CoV già noti, ovvero SARS-CoV e MERS-CoV portano invece a infezioni delle vie respiratorie gravi e sono potenzialmente fatali. SARS-CoV-2 è un coronavirus a RNA a filamento singolo positivo con involucro e ogni singola particella virale ha un diametro di circa 50-200 nm.<sup>[12]</sup>

Come altri coronavirus, SARS-CoV-2 presenta quattro proteine strutturali essenziali, note come: proteina S (spike), E (involucro), M (membrana) e N (nucleocapside); la proteina N contiene il genoma dell'RNA mentre le proteine S, E e M creano insieme il capsido virale, ovvero la struttura proteica che racchiude l'acido nucleico del virus e lo protegge dall'ambiente esterno.<sup>[13]</sup> (Fig.21)

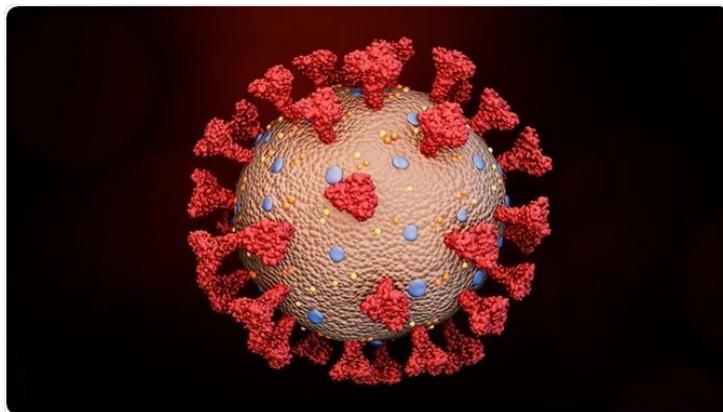


Fig.21 Struttura del virus SARS-CoV-2 con proteina S evidenziata in rosso

La proteina spike di SARS-CoV-2 è il principale meccanismo che il virus utilizza per infettare le cellule bersaglio, è collocata sulla superficie esterna del virus formando delle protuberanze

caratteristiche, si compone di 1.273 amminoacidi ed è formata da due componenti maggiori, chiamate subunità S1 e subunità S2. La subunità S1 ospita una sequenza di aminoacidi nota come 'Receptor Binding Domain', la quale è fondamentale per legare il virus alle cellule dell'ospite. La subunità S2, invece, è la sede di sequenze di aminoacidi la cui funzione finale è favorire la fusione e l'ingresso del virus nelle cellule dell'ospite.<sup>[14]</sup> (Fig. 22)

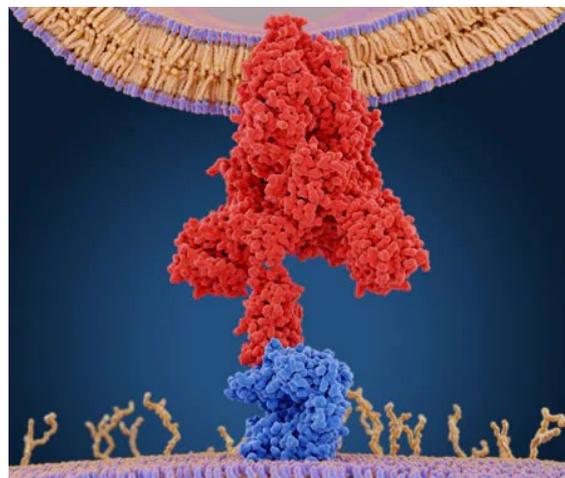


Fig.22 Componenti maggiori della proteina spike

Gli studi scientifici hanno osservato che la sequenza 'Receptor Binding Domain' della subunità S1 si lega alle cellule ospiti per mezzo di un'interazione con il recettore ACE2 posto sulla superficie della membrana plasmatica delle cellule stesse. Una volta che la subunità S1 si è legata ad ACE2, la proteina S comincia a cambiare conformazione; questo evento serve a favorire la fase di fusione attraverso le sequenze di aminoacidi della subunità S2 e l'ingresso finale del virus nella cellula ospite. Il cambio di conformazione della proteina spike, infatti, avvicina la membrana virale alla membrana plasmatica della cellula ospite permettendo la fusione tra membrane e successivamente l'inglobamento del virus infettante. Una volta che il genoma virale è all'interno della cellula ospite, il virus inizia la sua replicazione e il processo d'infezione può considerarsi completato. Il legame ad ACE2 e il cambio conformazionale che ne deriva sono due aspetti fondamentali per la realizzazione del vaccino contro SARS-CoV-2 e per capire i meccanismi di antigenicità e di risposta immunitaria attuata dall'ospite.<sup>[15]</sup>

### 3.2 Epidemiologia

Si ritiene che il SARS-CoV-2 abbia iniziato la sua diffusione dal mercato del pesce di Huanan a Wuhan, in Cina. Inizialmente, si supponeva che solo le persone che avevano visitato il mercato, oppure consumato il cibo preparato con gli animali infetti fossero infette da SARS-CoV-2.

Successivamente, ulteriori analisi inerenti ai tracciamenti dei contatti di pazienti positivi al COVID-19, hanno rivelato che un numero di individui senza storia di viaggi verso il mercato del pesce è risultato anch'esso positivo alla malattia COVID-19. Questi risultati hanno indicato la possibilità di una trasmissione da uomo a uomo del virus, che è stata successivamente segnalata in più di 200 paesi in tutto il mondo. La possibilità di trasmissione da uomo a uomo di SARS-CoV-2 è stata confermata anche da uno studio epidemiologico su pazienti positivi al COVID-19 all'interno di un gruppo familiare, in cui alcuni membri hanno visitato Wuhan, ma un membro della famiglia non si era recato nel luogo.<sup>[16]</sup>

Il numero di casi confermati in Cina è cresciuto fino a metà febbraio 2020 e successivamente, il numero di nuovi casi giornalieri in Cina ha iniziato a diminuire dalla fine di febbraio 2020. L'epidemia iniziale quindi, si è verificata solo a Wuhan e nei suoi dintorni nella provincia dell'Hubei prima che un caso fosse segnalato per la prima volta nella provincia del Guangdong il 19 gennaio 2020. Il 30 gennaio 2020, quando è stato segnalato il primo caso nella provincia del Tibet, il COVID-19 si era diffuso in tutte le 31 province della Cina continentale.<sup>[17]</sup> (Fig.23)

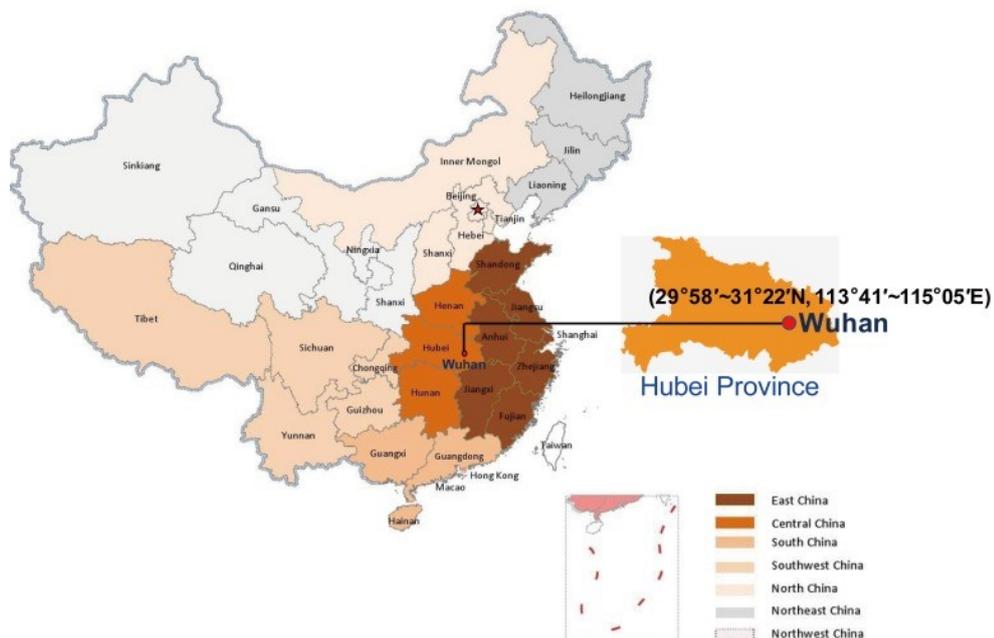


Fig.23 Posizione geografica di Wuhan, provincia di Hubei in Cina. La provincia di Hubei si trova nella zona centrale della Cina e la capitale della provincia è Wuhan.

Fino all'11 febbraio 2020, sono stati segnalati 44.672 casi in tutte le 31 province della Cina continentale (74,7% nell'Hubei).<sup>[17]</sup>

Nelle prime fasi della diffusione globale del COVID-19, i casi identificati al di fuori della Cina erano per lo più viaggiatori infettati in Cina che si spostavano in stati esteri. I paesi al di fuori della Cina

che hanno segnalato casi di COVID-19 associati a viaggi sono stati: Singapore, Giappone, Repubblica di Corea, Malesia, Vietnam, Australia, Stati Uniti d'America, Germania. Il COVID-19 ha iniziato a diffondersi a livello nazionale in Corea del Sud, Italia, Iran e Giappone da metà febbraio 2020.<sup>[17]</sup> (Fig.24)

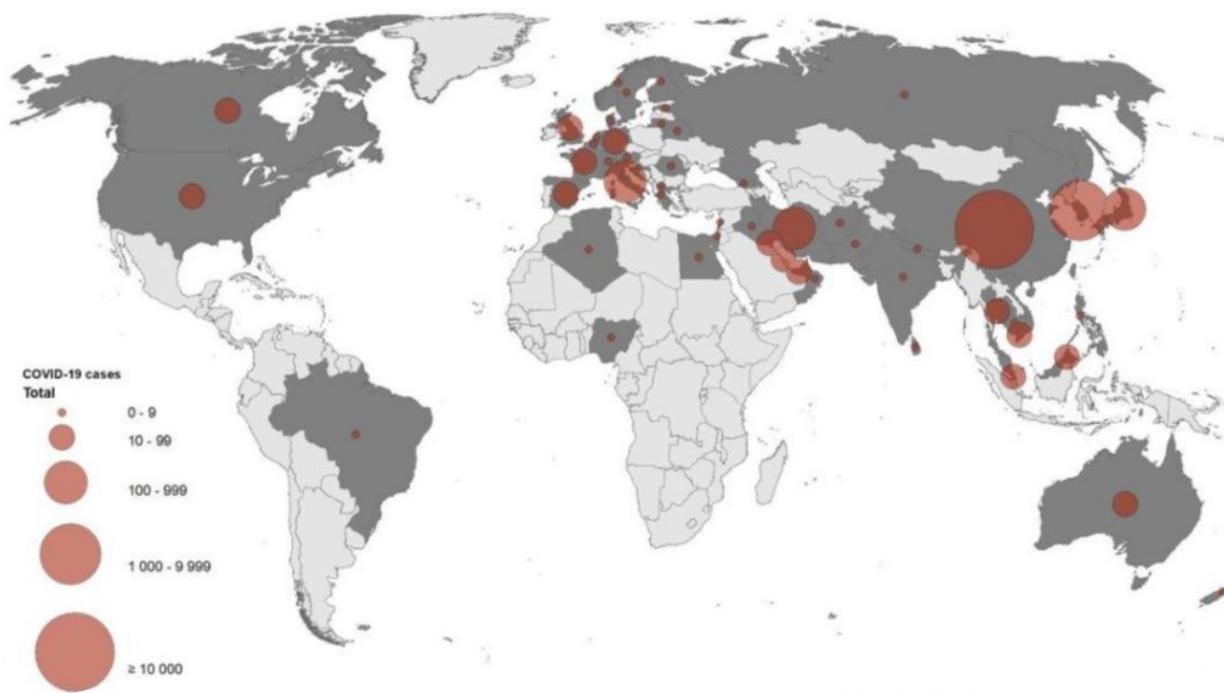


Fig.24 Distribuzione nel mondo dei casi di infezione da SARS-CoV-2 nel febbraio 2020

Alla data del 27 febbraio 2020, i casi confermati da laboratorio secondo il Centro europeo per la prevenzione e il controllo delle malattie sono 82.132 nel mondo. Di questi, 78.528 sono stati accertati in Cina, i restanti in una quarantina di altri Paesi (Fig.25). I Paesi con il più alto numero di casi, a parte la Cina, sono la Corea del Sud e l'Italia. Il focolaio più numeroso fuori dalla Cina è però rappresentato da un gruppo di 705 casi su una nave da crociera in acque territoriali giapponesi.<sup>[18]</sup>

I primi due casi di coronavirus in Italia sono stati una coppia di turisti cinesi partiti da Wuhan prima del blocco dei voli. Il terzo caso di coronavirus riguardava uno dei 56 italiani rientrati da Wuhan che ha manifestato sintomi durante la quarantena nella Città militare della Cecchignola. Il 21 febbraio 2020 si sono verificati per la prima volta casi di trasmissione locale in Italia. L'Istituto superiore di sanità ha confermato il primo caso risultato positivo all'Ospedale Sacco di Milano, un soggetto trentottenne ricoverato all'Ospedale di Codogno (Lodi) con una grave compromissione della funzionalità respiratoria. Il 15 marzo 2020 nell'ambito del monitoraggio sanitario relativo alla diffusione del nuovo Coronavirus sul territorio nazionale i casi totali sono 24747, 20603 le persone che risultano positive al virus, mentre quelle guarite sono 2335. I pazienti ricoverati con sintomi sono

9663, in terapia intensiva 1672, mentre 9268 si trovano in isolamento domiciliare; i deceduti sono 1809. Mentre nel mondo la distribuzione di casi confermati di COVID-19, il 15 marzo 2020, è riportata in figura.<sup>[19]</sup> (Fig.25)

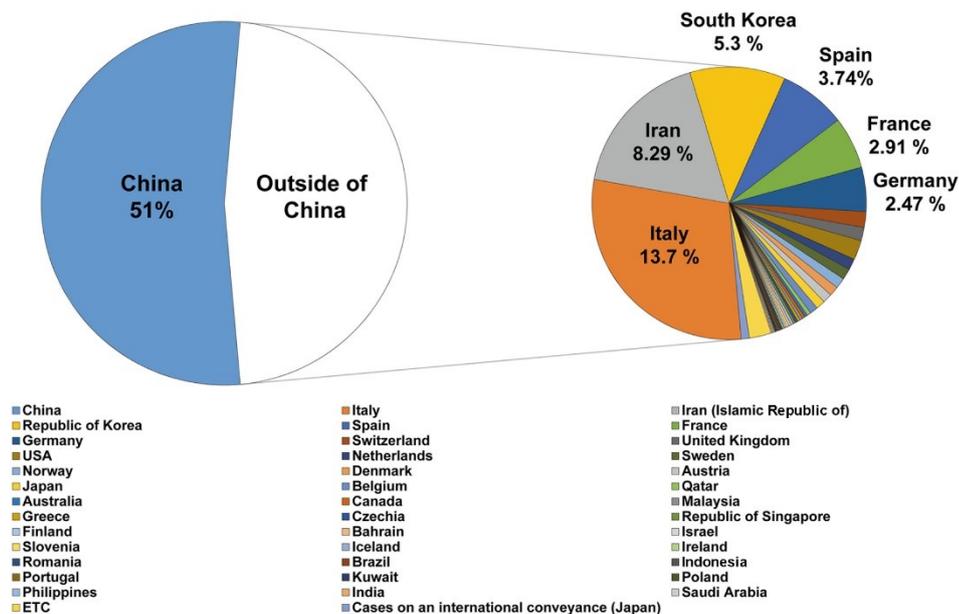


Fig.25 Distribuzione globale di casi confermati di COVID-19, il 15 marzo 2020

Alla data del 25 Aprile 2021, dai dati dell'OMS sono stati confermati 146.689.258 casi di COVID-19 nel mondo dall'inizio della pandemia e 3.102.410 morti.<sup>[19]</sup>

### 3.3 Eziologia

I mercati umidi, i macelli, gli habitat selvaggi, gli zoo e i parchi naturali, sia nei paesi sviluppati che in quelli in via di sviluppo, sono luoghi noti per essere l'origine di focolai di malattie epidemiche, come per esempio il COVID-19.<sup>[19]</sup>

In uno studio condotto da tre ricercatori, si evidenzia il ruolo che assumerebbero i macelli come fattore di diffusione dell'epidemia. Si sono infatti verificati importanti focolai a: Gütersloh nel Nord Reno-Westfalia, altri in UK a Leicester Anglesey, Merthyr, Tydfil, Wrexham e Kirklees, e infine in Portogallo in un macello avicolo nel quale almeno 129 dei 300 lavoratori hanno contratto COVID-19. Queste circostanze hanno spinto a indagare sui motivi che possono averle determinate, tra i quali sicuramente figurano: le basse temperature con alta o bassa umidità, superfici metalliche (il virus persiste vitale a lungo su queste), affollamento degli ambienti di lavoro, polveri in sospensione (piume, sangue e feci) e l'acqua di lavaggio che si diffonde su molte superfici.<sup>[20]</sup>

Tutto ciò fa comprendere l'importanza del riconoscimento precoce dei focolai, della preparazione e l'attuazione di precisi e flessibili piani epidemici, del dotarsi di efficienti sistemi di test per il tracciamento dei contatti ed eventuale isolamento dei positivi. A seguito del focolaio di COVID-19 risulta fondamentale esplorare potenziali ospiti intermedi di SARS-CoV-2 per controllare la diffusione della malattia. Gli scienziati hanno scoperto che la sequenza del genoma di SARS-CoV-2 è simile per il 79,5% con quella del SARS-CoV, mentre è identica per il 96,2% a quella del CoV RaTG13 (diffuso nei pipistrelli). In natura, i pipistrelli fungono da serbatoio di un'ampia varietà di coronavirus, inclusi i virus simili ai CoV, a causa di tale fattore e sulla base dei risultati degli studi genomici, questo mammifero è stato sospettato come ospite naturale di origine del virus. SARS-CoV-2 potrebbe essere stato trasmesso proprio dai pipistrelli o da ospiti intermedi sconosciuti e attraversare in tal modo la barriera tra specie e giungere fino all'uomo. Infatti, studi della biologia del SARS-CoV, hanno evidenziato frequenti passaggi a diversi ospiti, sia passaggi da animali all'uomo (zoonosi), da uomo ad animali (zoonosi inversa) o da una specie animale a un'altra specie animale diversa.<sup>[21]</sup>

Dal punto di vista molecolare, gli aspetti che consentono ai coronavirus di infettare diverse specie animali e l'uomo possono dipendere da: modifiche e mutazioni nella proteina superficiale del virus che funge da recettore (le punte o "spike" del virus) la quale favorisce l'attacco del virus ai recettori delle cellule del nuovo ospite e inoltre dalla possibilità di ingresso nella cellula indipendente dal legame tra proteina virale e recettore come via alternativa per la trasmissione tra le diverse specie animali e l'uomo.<sup>[22]</sup>

Inoltre, i ricercatori, investigando i dati pubblicati da campioni di polmone di pangolino, hanno rilevato CoV simili a SARS-CoV. Sono state trovate prove genomiche ed evolutive della presenza di un CoV simile a SARS-CoV-2 (denominato Pangolin-CoV) nei pangolini malesi morti. Pangolin-CoV è rispettivamente simile al 91,02% e 90,55% a SARS-CoV-2 e BatCoV RaTG13, a livello dell'intero genoma. (Fig.26) A parte RaTG13, Pangolin-CoV è il CoV più strettamente correlato a SARS-CoV-2.<sup>[23]</sup>



Fig.26 Similarità tra Pangolin-CoV, SARS-CoV-2 e BatCoV RaTG13

### 3.4 Diffusione per genere

Dai dati epidemiologici disponibili fino ad oggi sembra che esista una differenza di genere tra uomini e donne a proposito del rischio di infezione e di mortalità da COVID-19 a vantaggio delle donne.<sup>[24]</sup> Gli uomini hanno il 65% in più di probabilità di morire rispetto alle femmine. Per la scienza resta ancora un mistero il motivo di questa scelta apparentemente selettiva del virus, anche se gli esperti hanno fatto molte ipotesi, imputando tale resistenza femminile a un sistema immunitario più forte, alla nota azione protettiva degli ormoni estrogeni, alla minore presenza di malattie di base come cardiopatie e diabete, oltre alla minore presenza del vizio del fumo e dell'alcol nelle donne, cosa che le renderebbe meno vulnerabili degli uomini al SARS-CoV-2. La differenza nel numero dei casi segnalati per sesso, inoltre, aumenta progressivamente in favore degli uomini fino alla fascia d'età uguale o superiore ai settanta-settantannove anni, mentre oltre i novant'anni il numero delle donne si parifica con quello maschile e questo è dovuto probabilmente alla struttura demografica della popolazione, risultando queste ultime in assoluto le più longeve ed entrano in classifica perché non c'è più traccia dei coetanei.<sup>[24]</sup>

In medicina è un fattore consolidato che gli ormoni estrogeni femminili rappresentano una barriera naturale contro molte patologie, come per esempio quelle del cuore (il numero degli infarti nelle donne sono infatti enormemente inferiori a quelli maschili), ma non si riesce a comprendere ancora se la stessa cosa accada anche contro questo tipo di virus, perché dopo la menopausa la produzione di estrogeni cala in modo drastico e quindi la popolazione anziana femminile dovrebbe risultare a rischio quanto gli uomini, come anche non si comprende perché tra gli over 60-70 sono i maschi a risultare i più contagiati.<sup>[24]</sup>

Sono in corso alcuni studi sui geni immunocorrelati presenti sul cromosoma X in ambedue i sessi, i quali geni risulterebbero quindi doppi nelle donne (XX) e singoli negli uomini (XY), ma al di là di fattori presunti protettivi o predominanti, non si riesce ancora a spiegare il divario della forbice di contagio/letalità. Sappiamo che la porta d'ingresso del SARS-CoV-2 nelle cellule è l'enzima ACE2 del quale le donne hanno una maggiore espressione, eppure non per questo le stesse sono più a rischio, anzi.<sup>[24]</sup>

È stato calcolato che il COVID-19 uccide 3 persone su 100 infetti, ogni persona malata ne infetta una media di 3,2 e nei casi gravi, questa malattia provoca una polmonite che ha nel 5% dei casi, bisogno di ricovero in ospedaliero e di respirazione assistita. Non è ancora chiaro perché alcune persone si ammalano con sintomi severi mentre altre ne sviluppano di minima rilevanza, ma è chiaro però che questo dipende dalla quantità di virus che penetra nell'organismo, dall'età e dall'efficienza del sistema immunitario della persona che viene contagiata, come dimostrano i dati sulla popolazione pediatrica in cui la malattia si presenta quasi senza disturbi di sorta.<sup>[24]</sup>

Un report del 5 marzo 2021, descrive le caratteristiche di 106.789 pazienti deceduti e positivi a SARS-CoV-2 in Italia riportati dalla Sorveglianza Integrata COVID-19 coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità.<sup>[25]</sup>

L'età media dei pazienti deceduti e positivi a SARS-CoV-2 è 81 anni. L'età mediana dei pazienti deceduti positivi a SARS-CoV-2 è più alta di oltre 30 anni rispetto a quella dei pazienti che hanno contratto l'infezione (età mediane: pazienti deceduti 82 anni – pazienti con infezione 47 anni). Le donne decedute dopo aver contratto infezione da SARS-CoV-2 hanno un'età più alta rispetto agli uomini (età mediane: donne 86 anni – uomini 80 anni).<sup>[25]</sup>

La Fig.27 mostra l'andamento dell'età media dei pazienti deceduti positivi a SARS-CoV-2 per settimana di calendario, a partire dalla 3° settimana di febbraio 2020 (la data del primo decesso risale al 21 febbraio 2020). L'età media dei decessi settimanali è andata sostanzialmente aumentando fino agli 85 anni (1° settimana di luglio) per poi calare leggermente; un'ulteriore riduzione dell'età media dei decessi è stata rilevata a partire dalla seconda settimana di febbraio 2021.<sup>[25]</sup>

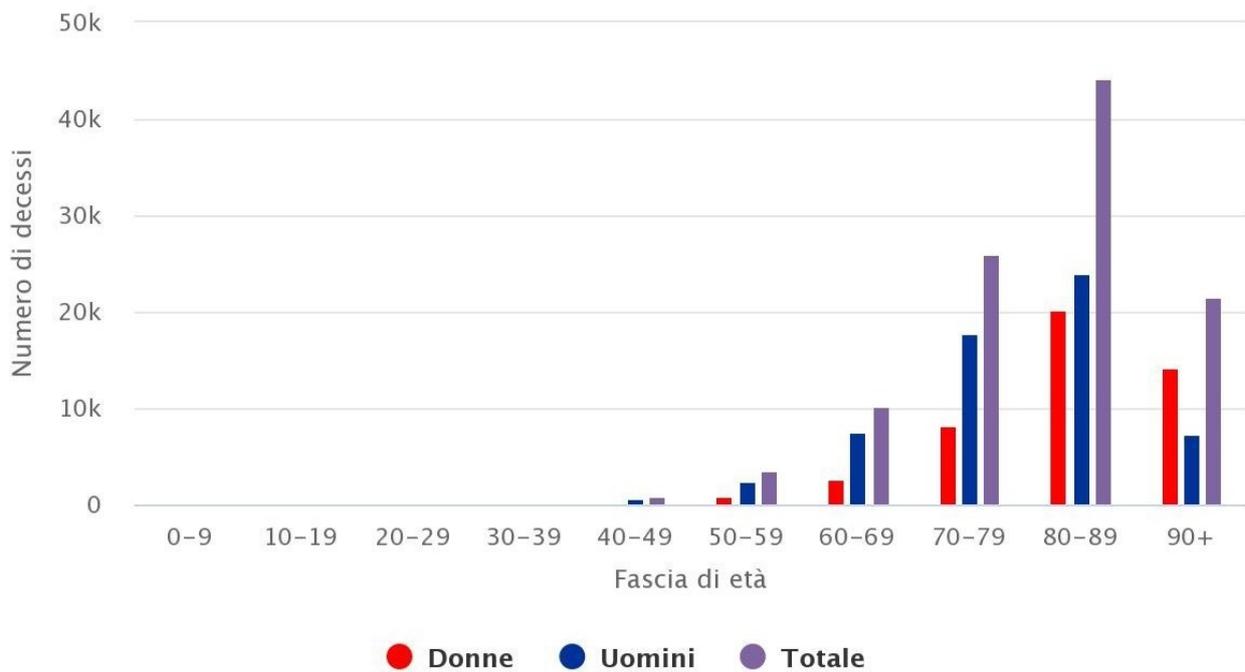


Fig.27 Numero di decessi per fascia di età

Il grafico della Fig.28 presenta le più comuni patologie croniche preesistenti (diagnosticate prima di contrarre l'infezione) in un campione di pazienti deceduti. Questo dato è stato ottenuto da 6992 deceduti per i quali è stato possibile analizzare le cartelle cliniche. Il campione è quindi di tipo opportunistico, rappresenta solo i decessi in soggetti che hanno avuto necessità del ricovero. Il numero medio di patologie osservate in questa popolazione è di 3,6 (mediana 3, Deviazione Standard 2,1). Complessivamente, 210 pazienti (3,0% del campione) presentavano 0 patologie, 815 (11,7%) presentavano 1 patologia, 1292 (18,5%) presentavano 2 patologie e 4675 (66,9%) presentavano 3 o più patologie.<sup>[25]</sup>

Nel particolare nelle donne (n=2826) il numero medio di patologie osservate è di 3,8 (mediana 4, Deviazione Standard 2,0), mentre negli uomini (n=4166) il numero medio di patologie osservate è di 3,5 (mediana 3, Deviazione Standard 2,1).<sup>[25]</sup>

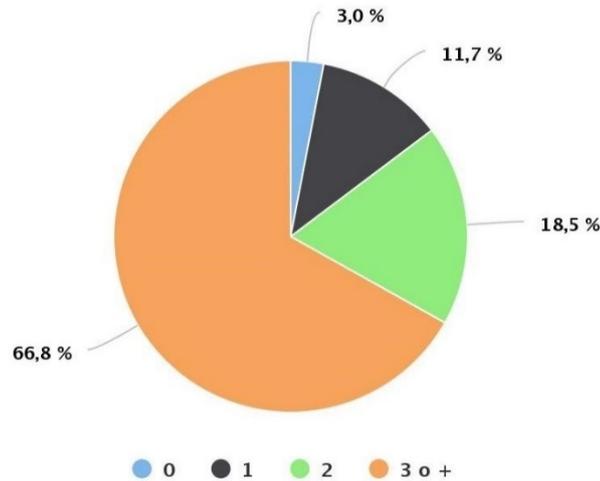


Fig.28 Numero di patologie di pazienti deceduti e positivi al SARS-CoV-2

Nella Fig.29 sono presenti le patologie preesistenti osservate più frequentemente per sesso di pazienti deceduti a seguito di infezione da SARS-CoV-2. Le più comuni patologie croniche preesistenti nei pazienti deceduti sono distinte in 4 fasce di età (16-59, 60-69, 70-79, 80+ anni). Le prevalenze di cardiopatia ischemica, fibrillazione atriale, scompenso cardiaco, ictus, ipertensione arteriosa, demenza, insufficienza renale cronica, insufficienza respiratoria aumentano con le età; diminuiscono, invece, con l'avanzare dell'età, le prevalenze di epatopatia cronica, delle patologie per cui è necessaria la dialisi, di infezione da HIV e di obesità; per diabete, Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva e tumore si riscontra una diminuzione solo nell'ultima fascia di età in controtendenza alla generale crescita con l'età. Per malattie autoimmuni, al contrario, si riscontra un aumento solo nell'ultima fascia di età in controtendenza alla diminuzione con l'età. Per quanto riguarda il numero di patologie, la prevalenza di coloro che hanno 3 o più patologie aumenta con le età, mentre diminuiscono con le età le prevalenze di coloro che hanno meno di 3 patologie.<sup>[25]</sup>

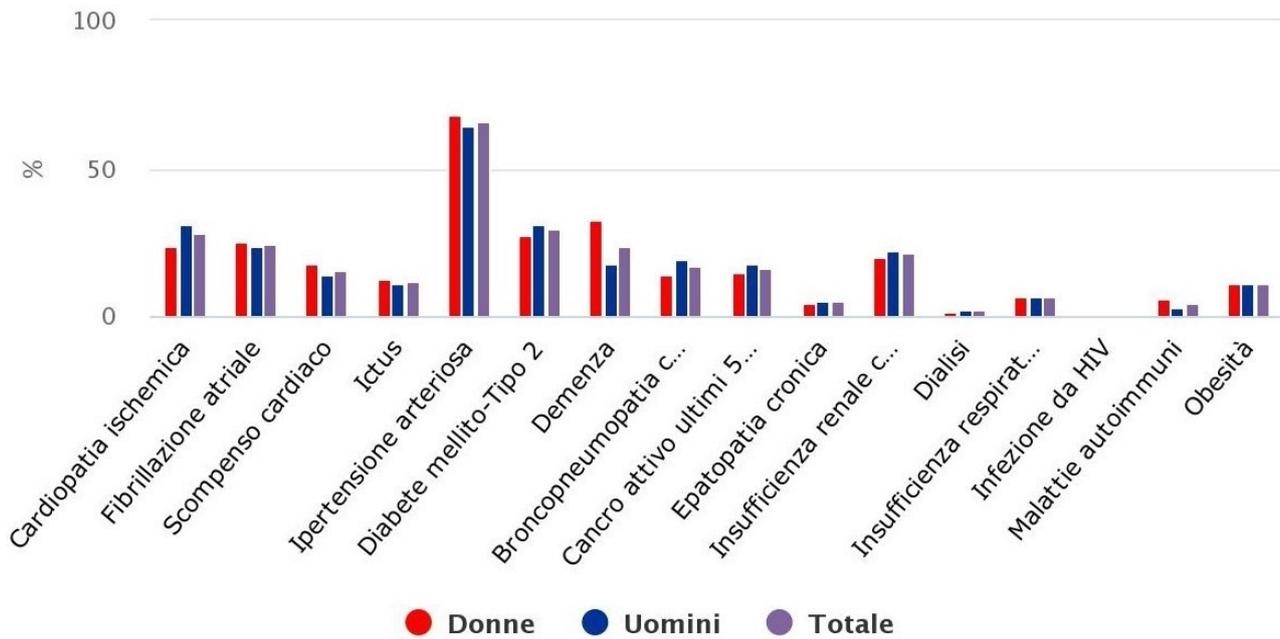


Fig.29 Patologie preesistenti osservati in pazienti positivi al SARS-CoV-2

### 3.5 Trasmissibilità e sintomi

La trasmissione di SARS-CoV-2 può avvenire attraverso il contatto diretto, indiretto o stretto con persone contagiate. Ciò avviene attraverso secrezioni infette come la saliva, secrezioni respiratorie o le loro goccioline respiratorie. Queste ultime vengono espulse quando una persona infetta tossisce, starnutisce, parla o canta e possono raggiungere la bocca, il naso o gli occhi di una persona suscettibile e provocare infezioni. Le goccioline respiratorie hanno un diametro maggiore di 5-10  $\mu\text{m}$  mentre le goccioline di diametro minore di 5  $\mu\text{m}$  sono indicate come nuclei di goccioline o aerosol.<sup>[26]</sup>

I sintomi da COVID-19 sono aspecifici e la presentazione della malattia può variare da non mostrare sintomi (asintomatici) a polmonite grave e morte. A partire dal 20 febbraio 2020 e sulla base di 55924 casi confermati in laboratorio, i segni e sintomi tipici includono: febbre (87,9%), tosse secca (67,7%), affaticamento (38,1%), produzione di espettorato (33,4%), mancanza di respiro (18,6%), mal di gola (13,9%), mal di testa (13,6%), mialgia o artralgia (14,8%), brividi (11,4%), nausea o vomito (5,0%), congestione nasale (4,8%), diarrea (3,7%), emottisi (0,9%) e congestione congiuntivale (0,8%). Le persone con COVID-19 generalmente sviluppano segni e sintomi, in media 5-6 giorni dopo l'infezione (periodo medio di incubazione 5-6 giorni, intervallo 1-14 giorni).<sup>[27]</sup>

La maggior parte delle persone infettate dal virus COVID-19 ha una malattia lieve e guarisce. Circa l'80% dei pazienti confermati in laboratorio ha avuto una malattia da lieve a moderata, che include

casi di non polmonite e polmonite, il 13,8% ha una malattia grave (dispnea) e il 6,1% è critico. Sono stati anche segnalati sintomi associati al muscolo scheletrico e miopatia nei pazienti con COVID-19. I principali fattori di rischio proposti per questo tipo di miopatia sono grave distress respiratorio, risposta infiammatoria sistemica e sepsi. Dato che SARS-CoV-2 ha la capacità di penetrare nelle cellule che esprimono i recettori ACE2 e poiché l'ACE2 è espresso nelle cellule muscolari, deve essere considerata anche la possibilità di invasione dei muscoli da parte del virus che entra nelle cellule. Inoltre, l'iperinfiammazione e le tempeste di citochine nella fase avanzata del COVID-19 potrebbero causare danni muscolari immuno-mediati. Considerando il numero crescente di pazienti con COVID-19, la miopatia dovrebbe essere considerata come una delle principali cause di disabilità fisica a lungo termine.<sup>[28]</sup>

### 3.6 Trattamenti e cura

Negli ultimi cento anni, i vaccini hanno aumentato significativamente l'aspettativa di vita, rimodellando radicalmente la comunità e l'economia. Man mano che la vaccinazione diventa ampiamente disponibile e utilizzata, gli impatti devastanti di molte malattie infettive sono svaniti. Le strategie di prevenzione e opzioni terapeutiche che sono state adottate contro COVID-19 sono: plasma iperimmune, che prevede il prelievo da persone guarite dal Covid-19 e la sua successiva somministrazione a pazienti affetti da Covid-19, anticorpi monoclonali, farmaci e una varietà di vaccini.<sup>[29]</sup>

Per quanto riguarda l'assunzione di farmaci per contrastare il COVID-19 le linee guida dei National Institutes of Health raccomandano remdesivir (un farmaco antivirale) e desametasone (un farmaco antinfiammatorio) per soggetti selezionati con malattia grave. Remdesivir è l'unico trattamento approvato dall'ente statunitense preposto al controllo dei cibi e dei farmaci (Food and Drug Administration) per il COVID-19 ed è approvato per l'uso solo in pazienti ricoverati con COVID-19. Il paracetamolo o i farmaci antinfiammatori non steroidei, come l'ibuprofene, possono essere assunti per alleviare febbre e dolori muscolari.<sup>[30]</sup>

Per lo sviluppo di vaccini umani, le agenzie di regolamentazione di diversi paesi hanno storicamente richiesto un numero crescente di studi clinici con un gran numero di pazienti e complessità. Queste misure assicurano che il prodotto vaccinale finale sia sicuro ed efficace per diversi sottogruppi di popolazione prima dell'autorizzazione all'uso commerciale. In genere, sono necessari 10-15 anni per condurre studi preclinici per ottenere la licenza per il vaccino.<sup>[31]</sup>

La stragrande maggioranza dei vaccini virali attualmente autorizzati per l'uomo può essere classificata come basata su virus o proteine. Quelli basati sui virus sono costituiti da un virus inattivato e, anche

se questi vaccini sono più immunogenici, a questi approcci sono associate diverse limitazioni. Nel caso di SARS-CoV-2, è necessario produrre grandi quantità di virus in condizioni di livello di biosicurezza 3 per un vaccino inattivato e sono necessari test di sicurezza approfonditi per garantire che non tornino a essere infettivi. Al contrario, i vaccini a sub-unità come quelli con proteine purificate presentano una maggiore sicurezza rispetto ai vaccini con agenti patogeni interi. Tuttavia, possono mostrare una minore immunogenicità.<sup>[32]</sup>

Molti approcci sono tutt'ora in via di sviluppo, anche se quelli basati su DNA e RNA sono tra quelli con il maggior potenziale per accelerare la produzione di vaccini efficaci quando urgentemente necessari. Negli ultimi dieci anni, importanti innovazioni tecnologiche e investimenti nella ricerca hanno consentito all'mRNA di diventare uno strumento terapeutico promettente nel campo dello sviluppo di vaccini. Il vaccino mRNA non ha bisogno di raggiungere il nucleo cellulare come quelli del DNA, che è uno dei potenziali vantaggi pratici. Sebbene l'RNA sia noto per essere una molecola relativamente instabile, sono stati sviluppati nuovi progetti di vaccini per migliorarne la stabilità e l'efficienza di traduzione delle proteine, che hanno migliorato la risposta immunitaria. L'mRNA-1273 (Moderna, USA) è stato il primo vaccino a mRNA ad essere progettato contro COVID-19 e ha raggiunto un record di 63 giorni dalla progettazione del vaccino alle sperimentazioni sull'uomo. I vaccini a base di mRNA comprendono mRNA che codifica per un antigene proteico. Infatti, questo vaccino utilizza un mRNA incapsulato con nanoparticelle lipidiche che codifica per una proteina S, ciò che rimane all'organismo è la capacità di riconoscere in seguito la proteina S, producendo anticorpi per bloccarla e impedire il suo ingresso nelle cellule umane.<sup>[33]</sup>

Alcuni vaccini in circolazione come Pfizer e Moderna sono basati sull'mRna (Rna messaggero) hanno dimostrato di avere un'efficacia del 94-95% nel prevenire la malattia con sintomi. Inoltre è essenziale tenere presente che quel 95% non è il valore della reale efficacia del vaccino, ma solo una sua stima soggetta a diverse fonti di incertezza in quanto non tutta la popolazione mondiale è stata obiettivo di studio, bensì solo un campione. I vaccini hanno mostrato livelli di efficacia differenti negli studi clinici. È chiaro che tutti i vaccini autorizzati negli Stati Uniti e in Europa riducono notevolmente il rischio di contrarre il COVID-19. Inoltre, tutti sembrano avere un'alta efficacia contro esiti più gravi, come l'ospedalizzazione e la morte. Nei prossimi mesi bisognerà vedere se diventano meno efficaci, perché l'immunità del vaccino diminuisce o perché emerge una nuova variante. In entrambi i casi, potranno essere sviluppati dei nuovi vaccini.<sup>[34]</sup>

### 3.7 Complicanze

Il SARS-CoV-2 ha causato un'ampia gamma di sintomi, principalmente infezioni respiratorie. La malattia ha un decorso diversificato; i pazienti possono variare da asintomatici a quelli con insufficienza respiratoria, complicata dalla sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS).<sup>[35]</sup>

SARS-CoV-2 utilizza l'enzima ACE-2, come recettore di ingresso cellulare. L'ACE-2 è espresso in diversi tessuti come il tratto respiratorio superiore e inferiore, il miocardio e la mucosa gastrointestinale. Negli esseri umani, sembra avere un ruolo nel controllo della pressione sanguigna e nella funzione cardiaca. Il ruolo fisiologico dell'ACE-2 nelle vie aeree è sconosciuto. Tuttavia, nei topi, l'ACE-2 sembra proteggere gli animali da gravi lesioni polmonari legate all'aspirazione e alla sepsi.<sup>[36]</sup>

Durante l'infezione da SARS-CoV-2, possono verificarsi tre stadi: stadio I, un periodo di incubazione asintomatico con o senza virus rilevabile; stadio II, periodo sintomatico non grave con presenza di virus; stadio III, stadio sintomatico respiratorio grave con alta carica virale. Durante la prima fase una risposta immunitaria adattativa specifica è fondamentale per eliminare il virus ed evitare la progressione della malattia a fasi gravi. Quando una risposta immunitaria protettiva è compromessa, il virus si propagherà e si verificherà una massiccia distruzione dei tessuti infetti. Le cellule danneggiate inducono un'inflammatione innata nei polmoni mediata da macrofagi e granulociti pro-infiammatori. L'inflammatione polmonare è la principale causa di disturbi respiratori potenzialmente letali nella fase grave.<sup>[37]</sup>

Il decorso sintomatico è solitamente associato all'inflammatione delle basse vie respiratorie. I sintomi polmonari che si verificano nelle persone infette possono essere suddivisi in lievi, moderati o gravi. Il decorso grave di polmonite in COVID-19, chiamato SARI è caratterizzato da mancanza di respiro, frequenza respiratoria  $>30/\text{min}$ , saturazione  $<93\%$  e  $\text{SpO}_2/\text{FiO}_2 <300$  e garantisce l'ammissione all'unità di terapia intensiva. Di solito, i sintomi si sviluppano entro 24-48 ore dall'infezione e nel tempo possono portare a condizioni pericolose per la vita. Una possibile complicanza del coinvolgimento polmonare in COVID-19 è la fibrosi polmonare, che porta a difficoltà respiratorie croniche, disabilità a lungo termine e influisce sulla qualità della vita dei pazienti.<sup>[38]</sup>

La fibrosi polmonare è una malattia cronica progressiva idiopatica o secondaria a malattie reumatologiche come le connettiviti e l'artrite reumatoide in cui il tessuto dei polmoni va incontro a progressivo danno strutturale da aumentato deposito di collagene e progressiva riduzione degli scambi gassosi. La fibrosi polmonare rende questi organi inadeguati a scambiare l'ossigeno con l'anidride carbonica provocando difficoltà respiratoria. Fra le possibili complicanze di questa patologia sono incluse l'insufficienza respiratoria, l'ipertensione polmonare secondaria, lo

scompenso cardiaco destro e aumentato rischio di cancro ai polmoni. La fibrosi polmonare non è reversibile, ma le terapie possono rallentare la progressione della malattia e ridurre i sintomi migliorando la qualità della vita.<sup>[39]</sup>

La progressione della fibrosi polmonare si traduce in un allargamento della matrice interstiziale, compressione finale e distruzione del normale parenchima polmonare, e quindi danni ai capillari che portano a insufficienza respiratoria. L'etiologia della fibrosi polmonare è multifattoriale e include età, fumo, infezioni virali, esposizione a farmaci e predisposizione genetica. Il grado di fibrosi polmonare è positivamente correlato alla durata della malattia SARS-CoV-1. I dati clinici hanno dimostrato che l'organizzazione fibrosa è più comune nei pazienti nella fase avanzata rispetto ai pazienti in una fase iniziale o intermedia. È importante sottolineare che la fibrosi polmonare è stata persino osservata in pazienti con SARS che si erano ripresi e sono stati dimessi dall'ospedale.<sup>[40]</sup>

L'imaging radiologico è estremamente utile per valutare il grado di danno polmonare e il coinvolgimento del parenchima polmonare; talvolta sostituisce i test di laboratorio nella diagnostica. In uno degli studi, sono state analizzate le immagini di tomografia computerizzata di 63 pazienti con COVID-19. Il numero medio di lobi polmonari colpiti era  $3,3 \pm 1,8$ , i cambiamenti più comuni erano opacità del vetro smerigliato a chiazze, il 17,5% dei pazienti aveva strisce fibrose e il 12,7% dei pazienti aveva noduli solidi irregolari.<sup>[41]</sup>

Test di laboratorio eseguiti su pazienti con infezioni da CoV sono stati eseguiti di routine per aiutare la diagnosi o per identificare la progressione della malattia a fini di ricerca. I ricercatori hanno valutato il livello di citochine in pazienti con COVID-19 e ha confrontato i loro livelli in pazienti gravemente malati in terapia intensiva con i livelli in pazienti non in terapia intensiva. Rispetto ai pazienti non in terapia intensiva, i pazienti in terapia intensiva avevano livelli plasmatici più elevati di IL-2, IL-7, IL-10, GSCF, IP-10, MCP1, MIP1A e TNF- $\alpha$ . L'aumento delle citochine proinfiammatorie (ad es. IL-1B, IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$ , IP-10 e MCP1) nei pazienti con SARS-CoV è stato associato a polmonite e danno polmonare esteso. Secondo i ricercatori che hanno riportato un follow-up di 15 anni di 80 pazienti con SARS, di cui 71 hanno completato il follow-up, le lesioni polmonari diminuiscono solo durante il primo anno dopo l'infezione. All'inizio dello studio il 9,4%, dopo un anno il  $3,2\% \pm 4,78\%$  e dopo 15 anni il  $4,60\% \pm 6,37\%$  dei pazienti presentava lesioni polmonari visibili alle scansioni nella tomografia computerizzata.<sup>[42]</sup>

Diversi fattori possono svolgere un ruolo nella gravità delle anomalie polmonari residue funzionali e nella probabilità di cicatrici residue della malattia. L'età del paziente, le comorbidità, la storia del fumo di sigaretta, la durata del ricovero ospedaliero e la gravità della malattia acuta (come la necessità di ricovero in terapia intensiva) e il tipo di farmaci somministrati (come la terapia antivirale o corticosteroidi) sono probabilmente tra i determinanti più importanti. L'imaging toracico di follow-

up a lungo termine dei sopravvissuti è necessario per una migliore comprensione dei possibili danni polmonari irreversibili della polmonite SARS-CoV-2. Per qualsiasi sospetto clinico di danno polmonare residuo, è possibile ottenere un'ulteriore valutazione mediante test di funzionalità polmonare e/o imaging. In termini di imaging, la radiografia del torace può essere il miglior passo iniziale. Tuttavia, nei pazienti con compromissione radiografica o funzionale residua, la tomografia computerizzata del torace ad alta risoluzione può essere indicata non solo per un'ulteriore caratterizzazione delle anomalie anatomiche del parenchima polmonare, ma anche per stabilire una linea di base per possibili futuri follow-up.<sup>[43]</sup>

### 3.7.1 Complicanze a carico del sistema nervoso

Del COVID-19 sappiamo soprattutto che colpisce le vie respiratorie, ma grazie a numerosi studi conosciamo che a seguito dell'infezione di questo virus vi sono conseguenze più o meno gravi anche sul sistema nervoso. I sintomi più frequenti che persistono in chi supera l'infezione, anche a distanza di diverso tempo, sono: amnesie, smarrimento, difficoltà a concentrarsi e mente annebbiata.<sup>[44]</sup>

Il virus, quindi, influisce sulle capacità mentali a medio e a lungo termine, indipendentemente da quale sia stata la sua carica ad azione virale, essendosi rivelato ininfluenza se il malato affetto fosse in precedenza lievemente sintomatico o ricoverato in ospedale con la sintomatologia conclamata. I pazienti con tale sindrome riferiscono di percepire la mente offuscata ed ovattata, di non ricordare i numeri di telefono che conoscevano a memoria, di non riuscire a scrivere una lettera o un articolo agevolmente, di dimenticare il tragitto per tornare a casa e a volte di non trovare le parole giuste per esprimere un concetto o identificare a mente un oggetto con il suo nome. Tali sintomi cognitivi, inoltre, non insorgono solo sulle persone anziane, che hanno un fisiologico rallentamento intellettuale dopo una infezione virale, ma prevalgono in quelli tra i 18 e i 49 anni, mentre la difficoltà di concentrazione e di messa a fuoco interessano tutte le fasce d'età dei sopravvissuti, che lamentano soprattutto stanchezza mentale, offuscamento e spaesamento, con diminuita reattività intellettuale, di pensiero e di ragionamento. Le cause ipotizzate dei disturbi potrebbero essere imputate alla risposta immunitaria delle citochine, le molecole infiammatorie rilasciate dal sistema nervoso al fine di contrastare l'invasore patogeno, che possono trasformarsi in tossine dannose per il cervello ed i suoi vasi sanguigni.<sup>[44]</sup>

Un'altra minaccia per il SNC è rappresentata da fattori infiammatori che hanno un impatto specifico sul neurosviluppo; prove convergenti suggeriscono che l'esposizione della madre all'infiammazione durante la gravidanza è associata al successivo sviluppo di disturbi neuropsichiatrici nella prole umana. Durante l'infezione, i tessuti dei villi fetali secernono un certo numero di citochine e

chemochine infiammatorie e immunoregolatrici, contribuendo alla loro presenza all'interfaccia fetale-materna. L'infezione da SARS-CoV-2 durante la gravidanza e l'infanzia può portare alla manifestazione di disturbi dello sviluppo neurologico.<sup>[44]</sup>

Probabilmente, il modo principale che sfrutta il SARS-CoV-2 per entrare nel cervello è associato al recettore ACE2 espresso nei neuroni e nella neuroglia (o nevroglia). Le cellule neurali che esprimono ACE2 si trovano negli organi circumventricolari, come l'organo subfornicale, il nucleo paraventricolare e il tratto solitario. Tutte queste regioni hanno poca protezione della barriera ematoencefalica e tutte sono coinvolte nella regolazione cardiovascolare e respiratoria. La mancanza della barriera ematoencefalica rende questi siti del SNC vulnerabili in molte patologie, come vari tipi di infiammazione sistemica, tra cui encefalopatia associata a sepsi, neuroinfezione da batteri, virus o parassiti, stress ed encefalite autoimmune. Le cellule della microglia localizzate negli organi circumventricolari sembrano essere in uno stato di attivazione cronica nel tentativo di limitare l'ingresso di molecole neurotossiche circolanti o agenti invasivi nel parenchima e di preservare l'omeostasi cerebrale.<sup>[45]</sup>

Il SARS-CoV-2, potrebbe avere come vie di accesso al nostro organismo gli assoni del nervo olfattivo.<sup>[45]</sup> È stato dimostrato che l'infezione intranasale di SARS-CoV-1 o MERS-CoV27 provoca una rapida diffusione di particelle virali nel cervello attraverso il bulbo olfattivo da un trasporto assonale retrogrado; i virus che si replicano nella cavità nasale possono utilizzare il collegamento diretto con il bulbo olfattivo per colonizzare il SNC. In questo paradigma il virus viene trasportato attraverso gli assoni dei neuroni del bulbo olfattivo con conseguente infezione della neuroglia.<sup>[46]</sup>

Il virus può anche entrare nel cervello infettando le cellule endoteliali che rivestono il sistema vascolare cerebrale; un'analisi microscopica elettronica del lobo frontale ha identificato particelle virali SARS-COV-2 nell'endotelio con alcune indicazioni per il transito del virus al neuropilo. Inoltre, i virus possono invadere il cervello attraverso altri nervi, come il nervo trigemino, che proietta terminali nocicettivi alle cavità nasali. Ulteriori prove di neuroinfezione da SARS-CoV-2 sono rappresentate da edema e degenerazione neuronale, le quali sono state riportate in campioni di cervello post mortem, mentre in un caso di sequenziamento del genoma dell'encefalite è stata confermata la presenza virale nel liquido cerebrospinale. L'analisi post mortem del tessuto nervoso di un uomo di 54 anni deceduto per grave insufficienza respiratoria associata a COVID-19 ha identificato particelle virali SARS-COV-2 nel nervo olfattivo, nel tronco cerebrale con segni di danni profondi a tutti gli elementi del tessuto comprese le cellule gliali, i neuroni, i loro assoni e la mielina.<sup>[47]</sup>

Sembra quindi che SARS-CoV-2, analogamente a SARS-CoV-1 e MERS-CoV infetti il TE, in cui si trovano i circuiti neuronali respiratori, e, per analogia, potrebbe verificarsi un'infezione simile e

contribuire all'insufficienza respiratoria, osservata nella polmonite SARS-CoV-2. La respirazione dipende da un generatore di pattern centrale situato nel ponte dorsolaterale, nel nucleo del tratto solitario; questo generatore di picchiettamenti è responsabile dei ritmi respiratori e del controllo dei motoneuroni che innervano i muscoli respiratori.<sup>[48]</sup>

Dagli studi in merito alle complicanze a carico del sistema nervoso vi è un risultato apparentemente paradossale: i più preservati dai danni sono i malati intubati rispetto a quelli rimasti coscienti. Infatti, se le alterazioni neurologiche fossero dovute principalmente alla scarsità di ossigeno nella fase acuta, i pazienti più gravi sarebbero stati i più colpiti; una possibile spiegazione è che le persone intubate sono rimaste incoscienti nella fase più grave, mentre gli altri, sia pure con caschetto o mascherina per l'ossigeno vedevano i vicini di letto soccombere, soffrivano il distacco dai familiari, l'incubo di morire da soli. Nei reparti di terapia intensiva si perde il ritmo sonno-veglia e anche questo può influenzare deficit funzionali.<sup>[49]</sup>

La ricerca che ha prodotto lo studio sulla “nebbia cognitiva”, pubblicata sull'European Journal of Neurology e che ha esaminato con un gruppo di neurologi circa 3000 soggetti in convalescenza dall'infezione virale, afferma che 3 pazienti su 4 possono presentare disturbi neurologici, ipotizzando un effetto diretto dalla diffusione del COVID-19 nel tessuto nervoso essendo stati identificati con il microscopio elettronico i danni tissutali correlati all'infezione. I sintomi della “nebbia cognitiva” inoltre, possono presentarsi subito dopo la malattia, a seguito del primo tampone negativo e durare anche alcuni mesi dopo la guarigione, insieme ad un senso di stanchezza cronica, fisica e soprattutto mentale, disorientamento a portare a termine le consuete mansioni con piccole perdite di memoria, impattando sia sulla psiche che sul morale del soggetto in convalescenza che risulta spesso esausto. Le infezioni virali di ogni tipo ed eziologia che hanno un decorso prolungato e non definito, portano di frequente a una diminuzione delle prestazioni del SNC, che rallenta la sua attività, mettendo a riposo diverse sue funzioni, cosa che giustifica la perdita di attenzione e di memorizzazione degli eventi della vita quotidiana. Tutti sintomi che fortunatamente regrediscono spontaneamente con tempi e modalità diverse da soggetto a soggetto, ma che in alcuni casi tendono a cronicizzare. Tra i sintomi relazionati al SNC ci sono mal di testa e vertigini, questi sono stati riportati come due delle manifestazioni iniziali più comuni in molti pazienti con COVID-19. Sono sintomi frequenti in molte patologie neurologiche come la meningite, l'encefalite e la vasculite. È stato dimostrato che possono verificarsi anche in associazione temporale con un'infezione virale sistemica.<sup>[50]</sup>

Nello studio del COVID-19, il mal di testa è stato segnalato in 2073 pazienti in 34 studi. La gravità del mal di testa è stata segnalata come da moderata a grave. È stato riportato che il dolore del mal di testa è per lo più localizzato nella regione temporo-parietale o talvolta più anteriormente verso la

fronte. Nella maggior parte di questi pazienti, l'insorgenza di mal di testa era associata a una storia medica passata di mal di testa.<sup>[51]</sup>

Sono stati suggeriti diversi potenziali meccanismi fisiopatologici per il mal di testa nella fronte; in particolare, potrebbe essere dovuto a un'invasione diretta di SARS-CoV-2 alle terminazioni del nervo trigemino nella cavità nasale. Inoltre, un altro meccanismo proposto è il rilascio dei mediatori pro-infiammatori e delle citochine durante infezione COVID-19 che potrebbe stimolare le terminazioni del nervo trigemino perivascolare e causare mal di testa.<sup>[52]</sup>

Possono verificarsi anche diversi eventi cerebrovascolari, per esempio, l'ictus ischemico acuto (AIS) è stato segnalato in circa l'1-3% dei pazienti con COVID-19; questo fenomeno è simile ad altre infezioni da CoV (SARS-CoV-1 e MERS-CoV). Durante l'attuale pandemia, 370 pazienti con infezione da SARS-CoV-2 su 37 studi hanno sofferto di AIS o attacco ischemico transitorio. La maggior parte di questi pazienti presentava diverse comorbidità sottostanti che li rendevano più suscettibili agli eventi tromboembolici.<sup>[53]</sup>

Tuttavia, ci sono segnalazioni di AIS che si verificano anche in pazienti giovani con infezione da SARS-Cov-2 e senza alcuna storia medica passata o fattori di rischio cardiovascolare. Gli effetti sistemici del SARS-Cov-2 potrebbero essere la causa di questi casi. Sono state riscontrate anomalie della coagulazione in pazienti con COVID 19 in condizioni critiche, questo è stato caratterizzato da un aumento dei fattori procoagulanti, inclusi i livelli sierici di fibrinogeno (94%), piastrine (62%), interleuchina-6 (IL-6) e D-dimero che successivamente possono contribuire a un tasso elevato di tromboembolismo e più alto tasso di mortalità e morbilità. SARS-CoV-2 può causare una risposta infiammatoria nel corpo. Livelli elevati di proteina C-reattiva (CRP), interleuchina-7 (IL-7), IL-6 e altri marker infiammatori rendono la placca aterosclerotica più suscettibile alla rottura. Le manifestazioni cardiache e le complicanze aritmiche di COVID-19 possono essere un altro potenziale meccanismo che contribuisce a un più alto tasso di eventi ischemici in questi pazienti.<sup>[53]</sup>

In studi su un'ampia popolazione, l'emorragia intracranica (ICH) è stata osservata in circa lo 0,5% dei pazienti con COVID-19. Dagli studi, 61 pazienti in 19 studi sono stati presentati con ICH. Nella passata pandemia di CoV, ICH è stata segnalata come complicanza neurologica con infezione da MERS-CoV. In pazienti critici, COVID-19 è stato associato a coagulopatie come trombocitopenia, D-dimero elevato e tempo di protrombina prolungato che può provocare emorragia. Un altro potenziale meccanismo che potrebbe provocare ICH è l'effetto di SARS-CoV-2 su ACE2. Come accennato in precedenza, è stato dimostrato che SARS-CoV-2 utilizza il recettore ACE 2 per l'ingresso nelle cellule. ACE2, il sito di legame SARS-CoV-2, è un componente critico del percorso contro-regolatorio del RAS, che è uno dei più importanti regolatori della pressione sanguigna. La sottoregolazione dell'ACE2 indotta da SARS-CoV-2 può portare a vasocostrizione e disfunzione

dell'autoregolazione cerebrale e conseguentemente picchi di pressione sanguigna che alla fine possono causare la rottura della parete arteriosa ed emorragia.<sup>[54]</sup> Ci sono rapporti che suggeriscono che anche gli interventi neurochirurgici sono stati accompagnati da più complicanze emorragiche nei pazienti con COVID-19.<sup>[54]</sup>

Un altro evento cerebrovascolare è la trombosi del seno venoso cerebrale. Nel complesso è stato dimostrato che le complicanze tromboemboliche venose e arteriose sono state osservate nel 5-15% dei pazienti con COVID-19 grave. La causa potrebbe essere la combinazione della coagulazione intravascolare disseminata di basso grado e microangiopatia trombotica polmonare localizzata. La coagulopatia causata da COVID-19 è caratterizzata da un aumento significativo dei D-dimeri, alti livelli di fibrinogeno, tempo di protrombina lievemente prolungato e una modesta trombocitopenia. Inoltre, nei pazienti con COVID-19 si osserva un aumento transitorio degli anticorpi antifosfolipidi che può giocare un ruolo nella fisiopatologia della trombosi.<sup>[55]</sup>

Come complicanze del sistema nervoso dovute da COVID-19 possono verificarsi le malattie demielinizzanti. Ad oggi, cinque pazienti con encefalomielite acuta disseminata (ADEM) sono stati segnalati dopo infezione da CoV; un adolescente con HCoV-OC43 e 4 adulti dopo SARS-CoV-2. La relazione tra infezioni da CoV e malattie demielinizzanti del SNC è stata suggerita negli ultimi decenni. Nonostante il fatto che l'ADEM si manifesti di solito nei bambini,<sup>[56]</sup> nell'attuale pandemia tutti i pazienti con ADEM segnalati avevano più di 50 anni. Questo risultato potrebbe essere dovuto a una maggiore prevalenza di COVID-19 negli adulti. Dei pazienti segnalati, due sono guariti con metilprednisolone e immunoglobuline per via endovenosa e due di loro sono morti, uno era un uomo di 71 anni con comorbidità sottostanti e l'ADEM è stata diagnosticata in biopsia post mortem. L'altro era un uomo di 58 anni che è stato trattato con desametasone ed è morto a causa dello stato epilettico.<sup>[57]</sup>

Un'ulteriore malattia demielinizzante è l'encefalomielite acuta causata da COVID-19 ed è stata segnalata in 4 pazienti. È stato riportato un uomo di 21 anni con encefalomielite a seguito di infezione da SARS-CoV-2. Il paziente ha riferito di avere sintomi dell'infezione delle vie respiratorie superiori per 2 settimane prima di questa analisi. Sulla base dei risultati clinici e della risonanza magnetica cerebrale, c'era il sospetto di ADEM o disturbo dello spettro della neuromielite ottica a seguito del contagio da SARS-CoV-2. La mielite acuta è stata segnalata in 5 pazienti dopo aver contratto il COVID-19. È stato dimostrato che il 30-60% dei casi di mielite trasversa idiopatica è associato a una malattia respiratoria, gastrointestinale o sistemica antecedente. Nei pazienti analizzati, l'eziologia post-infettiva in termini di reazione eccessiva immunogenica secondaria è stata proposta come meccanismo alla base della mielite dopo il contagio.<sup>[58]</sup>

La neurite ottica dopo il COVID-19 è stata segnalata in un solo paziente.<sup>[59]</sup>

Nei pazienti infetti da SARS-CoV-2 sono stati riscontrati casi di coscienza alterata, diminuzione del livello di coscienza ed encefalopatia; queste sono state riportate dal 7,5% al 31% dei pazienti con COVID-19 in 22 articoli comprendenti 454 pazienti. La coscienza alterata è un termine generale con diversi meccanismi sottostanti. Nei pazienti COVID-19, i possibili meccanismi includono infezioni, danni parenchimali, squilibrio elettrolitico, encefalopatie ipossiche, tossiche e metaboliche e stato epilettico non convulsivo.<sup>[60]</sup>

Le ricerche hanno riportato casi di leucoencefalopatia a seguito di COVID-19. Questa casistica è stata descritta in pazienti circa 10-14 giorni dopo un insulto ipossico come avvelenamento da monossido di carbonio, overdose di droga e arresti cardiopolmonari e si ritiene che si riferisca alla morte delle cellule oligodendrogliali e successivamente alla demielinizzazione. Altre potenziali eziologie possono essere infezione cerebrale diretta, encefalopatia associata a sepsi, demielinizzazione post-infettiva e sindrome da encefalopatia posteriore reversibile.<sup>[61]</sup>

L'encefalopatia necrotizzante acuta (ANE) che è stata segnalata in 8 pazienti con COVID-19 è un'entità distinta definita come rapida insorgenza di sintomi neurologici spesso secondari a un'infezione virale come l'herpes virus e l'influenza. Nonostante l'associazione con l'infezione virale, l'ANE di solito non è considerata un'encefalite infiammatoria. La tempesta di citochine che è stata descritta con SARS-CoV-2 e alcune altre infezioni virali può causare ANE, in particolare nei pazienti critici. In assenza di pleocitosi del liquido cerebrospinale, ovvero di un aumento del numero di cellule nel liquido cerebrospinale, un'intensa ondata di citochine pro-infiammatorie provoca un danno focale alla barriera emato-encefalica e induce edema e conseguente necrosi.<sup>[62]</sup>

Una delle possibili complicanze a carico del sistema nervoso è l'encefalite. Quest'ultimo è il termine con cui si identifica l'infiammazione dell'encefalo ed è spesso scatenata da un virus, che causa sintomi simili a quelli di un'influenza. Al 19 maggio 2020, otto adulti di età compresa tra 24 e 78 anni, tra cui quattro donne, sono stati descritti con encefalite associata a COVID-19, per lo più diagnosticata attraverso un tampone nasale o nasofaringeo. Le caratteristiche neurologiche sono iniziate per lo più dal momento della comparsa dei sintomi respiratori fino a 17 giorni dopo, sebbene in un uomo di 60 anni, la confusione abbia preceduto la tosse e la febbre di due giorni. Due pazienti avevano solo febbre, senza caratteristiche respiratorie. Le manifestazioni neurologiche erano tipiche dell'encefalite, con irritabilità, confusione e ridotta coscienza, talvolta associate a convulsioni; tre pazienti presentavano anche rigidità del collo e un altro aveva sintomi psicotici. Un uomo di 40 anni ha sviluppato atassia, oscillopsia, singhiozzo e debolezza facciale bilaterale. Il brain imaging era normale o non presentava alterazioni acute per sei pazienti e mostrava un'elevata intensità del segnale in due, inclusi i cambiamenti del lobo temporale in uno (Figura 30, B).

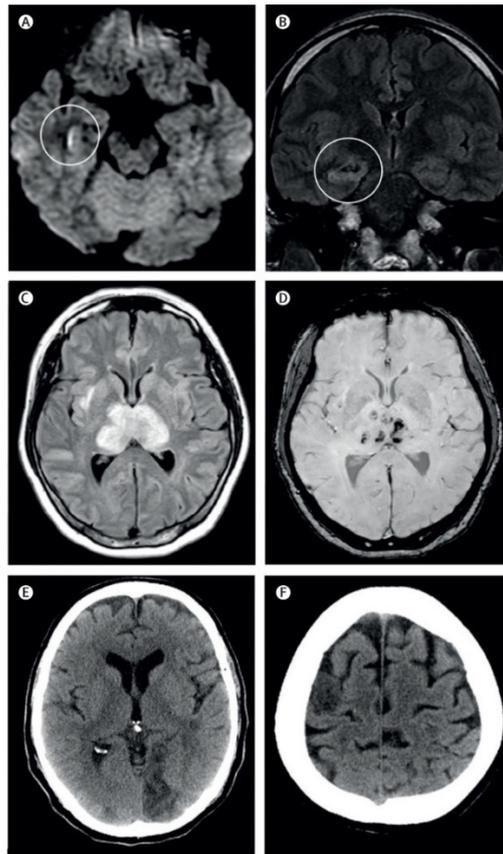


Fig.30 Brain imaging in pazienti con malattia neurologica associata a COVID-19

In questo studio precedente l'EEG è stato eseguito in cinque pazienti: due avevano un rallentamento generalizzato, due avevano anomalie focali e un paziente, che presentava sintomi psicotici seguiti da un attacco epilettico non convulsivo. Un paziente ha risposto rapidamente a dosi elevate di steroidi, ma per gli altri sette non è stato segnalato alcun trattamento specifico oltre ai farmaci anticonvulsivanti, antivirali e antibiotici.<sup>[63]</sup>

Sono stati constatati casi di sindrome da encefalopatia posteriore reversibile (PRES), di solito si presenta con compromissione acuta del livello di coscienza, mal di testa, disturbi visivi e convulsioni. Spesso è associato a edema vasogenico corticale o subcorticale, che coinvolge prevalentemente le regioni parietale e occipitale bilateralmente. Questa condizione è comunemente associata a fluttuazioni della pressione sanguigna, insufficienza renale, condizioni autoimmuni, infezioni e sepsi, preeclampsia o eclampsia e alcuni tipi di farmaci immunosoppressori-citotossici. PRES è stata riportata in dieci pazienti COVID-19 su 8 studi. L'eziologia definitiva non è completamente compresa ma ci sono vari meccanismi sottostanti proposti. In COVID-19, la disfunzione endoteliale correlata a SARS-CoV-2 in combinazione con instabilità emodinamica e attivazione immunologica con rilascio

di citochine può aumentare la permeabilità vascolare nel tessuto cerebrale. Inoltre, l'interruzione della barriera ematoencefalica in questi casi può causare edema vasogenico e PRES.<sup>[64]</sup>

Gli studi hanno suggerito che i pazienti COVID-19 possono essere a maggior rischio di conseguenze di ipertensione non controllata come encefalopatia ipertensiva e PRES a causa della disfunzione endoteliale. Per questo motivo, è stato suggerito un controllo stretto della pressione sanguigna, in particolare nei pazienti COVID-19 ventilati. Tra i sintomi del SNC vi sono anche le convulsioni, sono state segnalate come manifestazione neurologica in pazienti infetti da SARS-CoV-1, MERS-CoV e SARS-CoV-2. Nello studio del COVID-19, 48 pazienti su 20 studi hanno riportato convulsioni. È noto che le infezioni virali del SNC e la successiva attivazione di vie neuroinfiammatorie, facilitano le convulsioni e l'epilettogenesi in alcuni individui. Ad esempio, in un paziente COVID-19 con precedente danno cerebrale strutturale, sono state segnalate convulsioni focali originate dal sito della lesione. Inoltre, l'accumulo di marker infiammatori associati all'infezione da SARS-CoV-2, può causare un'irritazione corticale locale che genera convulsioni. Inoltre, l'encefalite virale e l'invasione diretta del virus nel SNC possono causare convulsioni nei pazienti affetti. In pazienti con COVID-19 in condizioni critiche, squilibri metabolici ed elettrolitici, ipossia in corso e processi infiammatori/infettivi possono anche contribuire a convulsioni. In uno studio sui risultati dell'EEG di pazienti COVID-19, è stata riscontrata attività epilettiforme sporadica, prevalentemente sotto forma di onde acute frontali, essa è stata rilevata nel 40,9% dei pazienti con stato mentale alterato. In diverse indagini è stato segnalato un "rallentamento generalizzato del background", in particolare nei pazienti con ridotto livello di coscienza. È stato anche dimostrato che una precedente diagnosi di epilessia può essere un potenziale fattore di rischio per convulsioni associate a COVID-19.<sup>[65]</sup>

Un sintomo comune del COVID-19 riguarda le anomalie dei nervi cranici; in particolare la perdita dell'olfatto (anosmia) e del gusto (ageusia). Uno studio su 259 pazienti, di cui 68 positivi per SARS-CoV-2, ha scoperto che l'odore e il gusto anormali erano entrambi fortemente associati a COVID-19. In uno studio europeo, la disfunzione olfattiva è stata segnalata per 357 (86%) di 417 pazienti COVID-19; 342 (82%) hanno riportato disturbi gustativi. Sebbene questi sintomi possano verificarsi in qualsiasi infezione respiratoria a causa della corizza, il fatto che si verificano separatamente da altri sintomi suggerisce che vi sia un coinvolgimento del nervo olfattivo.<sup>[66]</sup>

I casi gravi di COVID-19 sono quasi invariabilmente accompagnati da un'eccessiva risposta immunitaria dell'ospite, caratterizzata principalmente da un massiccio aumento dei livelli plasmatici di Interleuchina 6 (IL-6), che è direttamente correlato a complicanze sul sistema nervoso. Allo stesso tempo sono state rilevate concentrazioni elevate di IL-6 nel liquido cerebrospinale di persone che hanno tentato il suicidio, di soggetti affetti da depressione o schizofrenia, di pazienti anziani depressi e di madri con depressione post-parto.<sup>[67]</sup>

Vari studi hanno dimostrato che i cambiamenti nei livelli di IL-6, sia nel plasma che nel cervello, sono implicati nell'emergenza della depressione, sebbene anche altri fattori, ambientali o di natura genetica, forniscano un contributo importante. Nel SNC, IL-6 agisce come un mediatore pro-infiammatorio, che promuove la sintesi e la secrezione di ulteriori fattori infiammatori e proteine della fase acuta da parte degli astrociti e della microglia. Per inciso, alti livelli di IL-6 sono stati rilevati nel plasma, nel liquido cerebrospinale e nella corteccia prefrontale post mortem di soggetti con tentativi di suicidio non fatali o suicidi commessi. I livelli di IL-6 in circolazione erano anche correlati a comportamenti endofenotipici suicidari, come disturbi dei tratti di personalità, aggressività e impulsività. Ciò è in accordo con numerosi risultati che dimostrano il ruolo delle citochine nella regolazione delle emozioni e dei comportamenti attraverso l'interazione con specifiche aree cerebrali e diversi percorsi neuronali. La pandemia di COVID-19 ha provocato cambiamenti significativi nello stile di vita e nelle relazioni interpersonali, condannando molti a una solitudine prolungata. Queste condizioni di stress psicosociale possono anche avere un effetto dannoso sui soggetti più fragili compromettendone la capacità di modulare le emozioni. La diminuzione del controllo sull'impulsività e sui sentimenti di paura in combinazione con le sfide infiammatorie al cervello potrebbe aumentare il rischio di suicidio. Disabilità visive dopo COVID-19 sono state riportate in 12 pazienti su 3 studi. Le ricerche hanno riportato una donna di mezza età con COVID-19 che presentava un offuscamento visivo monoculare dell'occhio destro a insorgenza improvvisa. Gli eventi tromboembolici, l'infiammazione sistematica associata a COVID-19 e l'invasione di CoV nel SNC attraverso la via ematogena o l'invasione diretta attraverso la lamina cribriiforme è stato considerato il potenziale meccanismo sottostante.<sup>[68]</sup>

Per quanto concerne le malattie neurodegenerative, non è stata trovata un'associazione diretta tra Morbo di Parkinson e infezione da Covid-19, ma diversi studi hanno evidenziato la presenza di anticorpi anti-CoV nel liquido cerebrospinale di soggetti con malattia di Parkinson. Poiché le cellule neurali e immunitarie possono avere la funzione di serbatoi di Cov latente, è possibile che ciò possa contribuire a ritardare i processi neurodegenerativi.<sup>[68]</sup>

Tra le complicanze dell'SNP, si osservano l'encefalite troncoencefalica di Bickerstaff e sindrome di Guillain-Barre, ovvero una polineuropatia infiammatoria acuta, in genere rapidamente progressiva, ma autolimitante caratterizzata da debolezza muscolare e lieve perdita della sensibilità distale. Di solito, questi sintomi si sono verificati da due a tre settimane dopo i sintomi respiratori. Per quanto riguarda l'incidenza, tali complicazioni si osservano in una piccola serie di casi. Queste complicazioni post-Covid sono state descritte in un piccolo gruppo di casi e la causalità, quindi, non può essere definitivamente stabilita.<sup>[69]</sup>

# Capitolo 4 ANALISI DI UN DATO REALE PER RILEVARE IL POTENZIALE EVENTO-CORRELATO TRAMITE EEGLAB

## 4.1 Descrizione database

Il dato reale utilizzato per l'analisi è stato ottenuto dal database "EEG Signals from an RSVP Task"<sup>[70]</sup> in PhysioNet, contenente l'EEG di un soggetto sano. L'EEG è stato acquisito durante una rapida presentazione delle immagini attraverso il protocollo Rapid Serial Visual Presentation (RSVP) a velocità di 10 Hz. Il RSVP è un metodo scientifico nel quale una sequenza di immagini viene mostrata a un osservatore, il soggetto quindi, è incaricato di segnalare uno stimolo (target) in un punto del suo campo visivo, che possiede caratteristiche che lo differenziano dal resto del flusso.

Il dato preso in considerazione è un segnale EEG composto da 8 canali che segue il sistema 10-20 (PO8, PO7, PO3, PO4, P7, P8, O1 e O2) e la sua frequenza di campionamento è di 2048 Hz. Durante l'esperimento, il soggetto è stato posto a una distanza approssimativa di 80 cm dallo schermo in cui sono state presentate le immagini. La sequenza di stimoli era composta da immagini aeree di Londra, convertite in scala di grigi che sono state mostrate ai partecipanti in sequenze (o burst) di 100 immagini. Il partecipante poteva riposarsi tra gli stimoli ed era libero di decidere quando iniziare la raffica successiva di stimoli facendo clic su un pulsante del mouse.

Ogni burst includeva 10 immagini target, ognuna delle quali conteneva un aeroplano ruotato e posizionato casualmente (esemplificato in Fig.31, pannello A) che non era presente nelle immagini non target (illustrato in Fig.31, pannello B). Per garantire che i bersagli fossero completamente contenuti all'interno di ogni immagine di destinazione, le sottofigure sono state ritagliate da un'immagine su larga scala di Londra prima di posizionare il bersaglio in esse.

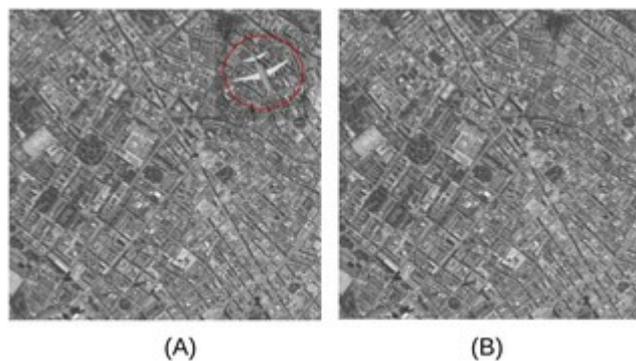


Fig.31 Immagine aerea di Londra contenente aereo "bersaglio" (pannello A) e immagine area di Londra senza aereo "bersaglio" (pannello B), la dimensione della figura è  $640 \times 640 \text{ px}^2$

Per ogni immagine del bersaglio, è stata definita la posizione orizzontale del bersaglio come la coordinata x del baricentro dell'aereo. I bersagli laterali erano quelli il cui baricentro era posizionato con un angolo visivo di almeno  $\pm 1,2^\circ$  sull'asse orizzontale (rispetto al centro dello schermo). Utilizzando questo criterio, circa il 60% (144 su 240) dei bersagli è stato classificato come laterale. Di questi, 59 erano localizzati sul campo visivo sinistro (LVF) e 85 sul campo visivo destro (RVF). I bersagli che non erano laterali sono stati classificati come bersagli centrali.

Al fine di ottenere registrazioni EEG prive di artefatti, al partecipante è stato chiesto di cercare di ridurre al minimo i battiti di ciglia e i movimenti generali durante l'esperimento. Per incoraggiare il soggetto a rimanere concentrato sul compito, gli è stato chiesto di contare mentalmente il numero di aeroplani che ha visto in ogni raffica e di riportare verbalmente il conteggio alla fine.

#### 4.2 Metodo di analisi proposto

Lo scopo del metodo presentato è quello di processare ed elaborare dati EEG di un paziente affetto da COVID-19, in modo tale da estrarre informazioni che permettono anche di rilevare particolari attività dei ritmi alpha, beta, delta e gamma associabili all'infezione da SARS-CoV-2. In seguito, verrà trattata l'analisi di un dato reale di un paziente sano a causa della mancanza in letteratura scientifica di EEG registrati di pazienti contagiati. Il metodo può essere riproposto allo stesso modo nella casistica di soggetto malato.

Per il processamento dei dati è stato utilizzato EEGLab. Quest'ultimo è un toolbox funzionante sotto ambiente MATLAB. EEGLab fornisce un'interfaccia grafica che consente agli utenti di elaborare in modo flessibile e interattivo i propri EEG. Questo strumento, infatti, mette a disposizione dell'utente tutta una serie di utili funzioni come: l'analisi del segnale nel dominio del tempo, l'analisi di un ERP e l'analisi delle componenti indipendenti (ICA).

Per avviare EEGLab, partendo dal prompt dei comandi MATLAB, occorre selezionare la cartella in cui tale toolbox è contenuto e digitare poi il comando `eeglab` nella Command Window. A seguito di ciò, comparirà la schermata di avvio di EEGLab. (Fig.32)

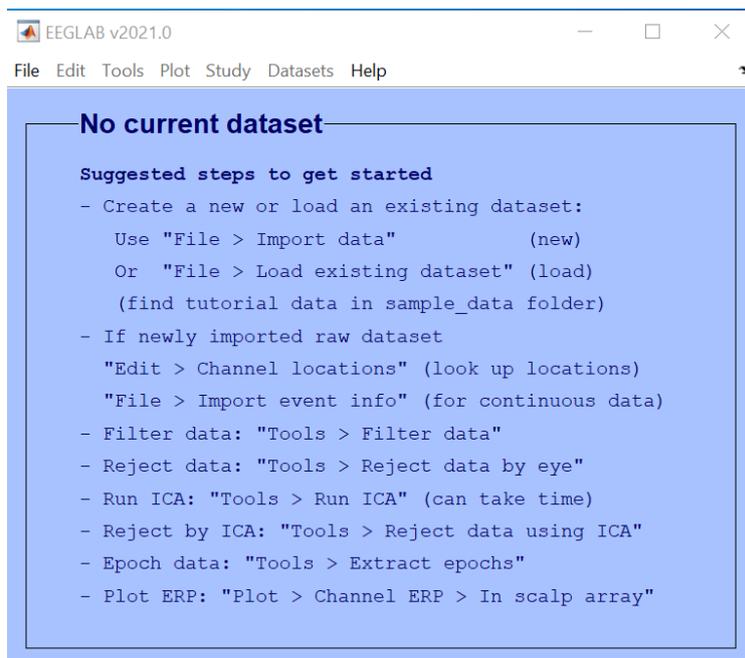


Fig.32 Schermata di avvio di EEGLab

Per importare dati EEG reali in formato edf., come nel caso dei segnali acquisiti dal database descritto in precedenza, bisogna partire dalla finestra d'avvio di EEGLab e selezionare le seguenti voci in cascata: **File** → **Import Data** → **Using EEGLAB functions and plugins** → **From EDF/EDF+/GDF files (BIOSIG toolbox)**. Caricato il file apparirà la finestra importazioni dati, dove nella sezione **Channel list (default all)**, si devono inserire i numeri corrispondenti ai canali presenti nel dato importato. Nel nostro caso, come riportato in figura, vi sono 8 canali. (Fig.33)

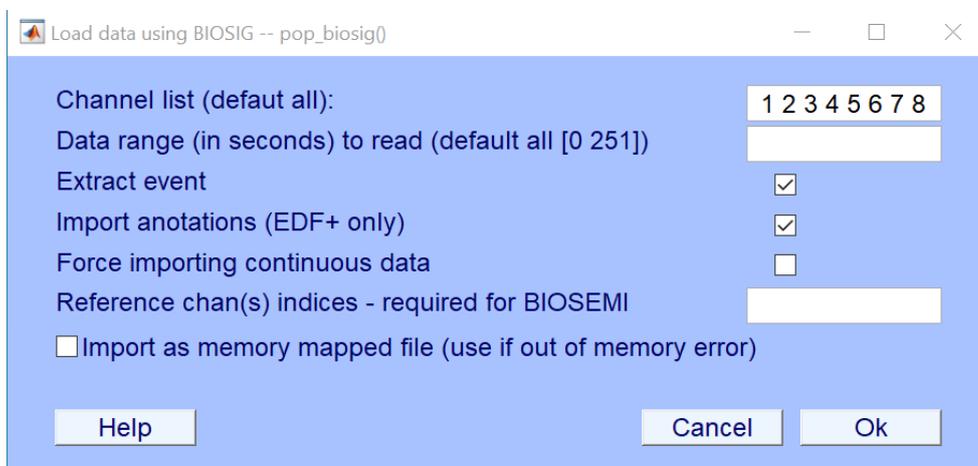


Fig.33 Finestra di importazione dati

Dopo aver eseguito i passi precedentemente descritti, per caricare i file in questione è necessario cliccare sul tasto **Ok**. Apparirà quindi una finestra info dataset, dove potremo inserire dei commenti al dataset, cliccando su **edit descrip...**, oppure andare avanti nel caricamento dei dati, cliccando su **Ok**. EEGLab risponderà mostrando a video la finestra informativa inerente al dataset a 8 canali. (Fig.34)



Fig.34 Finestra dataset EEG a 8 canali

Successivamente al caricamento del dato EEG è fondamentale importare le channel location, ovvero file che contengono le coordinate spaziali di tutti gli elettrodi utilizzati per registrare il tracciato EEG. Le channel location rivestono notevole importanza sia per il plottaggio delle mappe 2D e 3D, sia per la decomposizione del segnale nelle corrispondenti componenti indipendenti tramite algoritmo ICA. Per fare ciò bisogna selezionare dal menù di EEGLAB le voci: **Edit** → **Channel locations** e nella finestra che compare è possibile inserire manualmente le coordinate polari o cartesiane dei vari elettrodi. Un metodo alternativo a quest'ultimo, consiste nell'immettere nella command window di Matlab tramite un opportuno codice, le etichette dei canali relative ai vari elettrodi. Apparirà una finestra di dialogo che chiederà se si desidera utilizzare le posizioni dei canali standard in base alle etichette di posizione degli elettrodi, importate da un file di posizioni dei canali utilizzando un sistema internazionale 10-20. Dopo aver selezionato il tasto **Ok**, EEGLab risponderà visualizzando a video la seguente finestra (Fig.35):

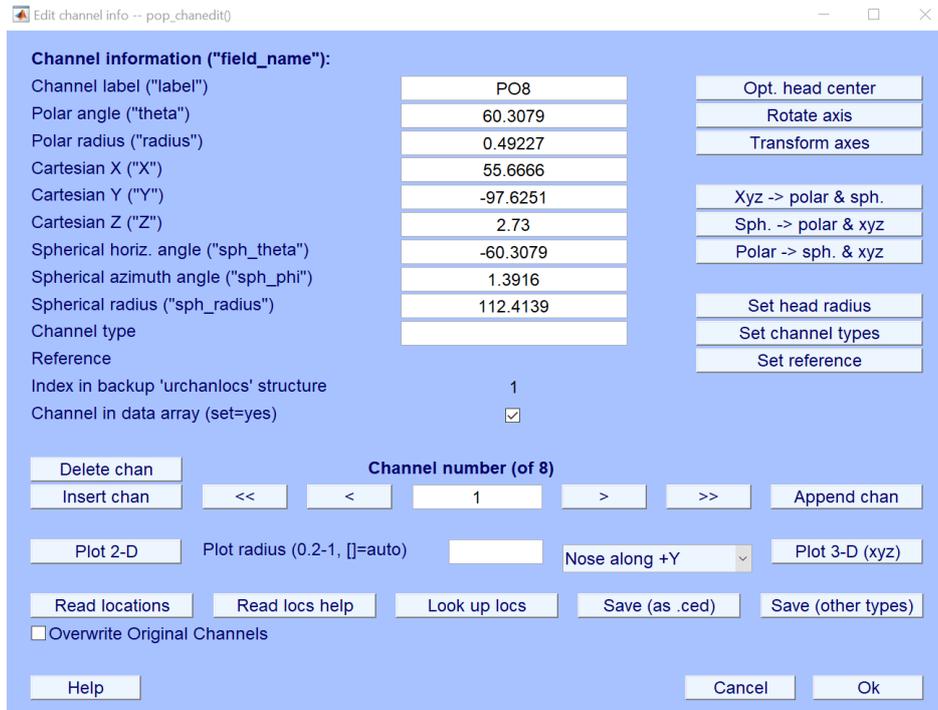


Fig.35 Finestra di modifica delle channel location

Per salvare il file contenente le channel location cliccare il tasto **Save (as .ced)** presente nella finestra di modifica. Successivamente, nella schermata che comparirà, selezionare la cartella contenente i dati di installazione di EEGLab e procedere al salvataggio.

Nel caso si volesse importare un file di localizzazione con tutte le informazioni già memorizzate, basterà cliccare su **Read Location** e individuare il file in questione. EEGLab risponderà visualizzando a video la seguente schermata. (Fig.36)

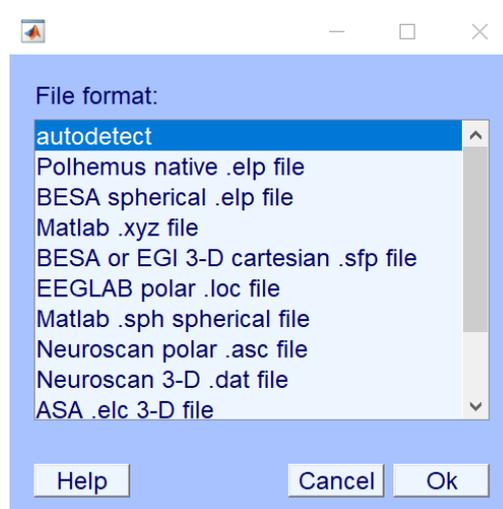


Fig. 36 Finestra di lettura del file location

Dopo aver selezionato il formato corrispondente al file utilizzato, cliccheremo su **Ok**, ottenendo come risposta una nuova finestra di modifica delle channel location con i parametri richiesti già inseriti. Per completare l'operazione di inserimento basterà selezionare il tasto **Ok**.

Ora è possibile visualizzare la mappa 2D (per nome o per numero di elettrodo) relativa alla posizione dei vari canali. Per fare ciò è necessario selezionare dal menù di EEGLab le seguenti voci in cascata: **Plot** → **Channel locations** → **By name** (Fig.37) oppure **Plot** → **Channel locations** → **By number** (Fig.38). Ad esempio, per un channel location file relativo ad un montaggio con 8 elettrodi otterremo le seguenti figure:

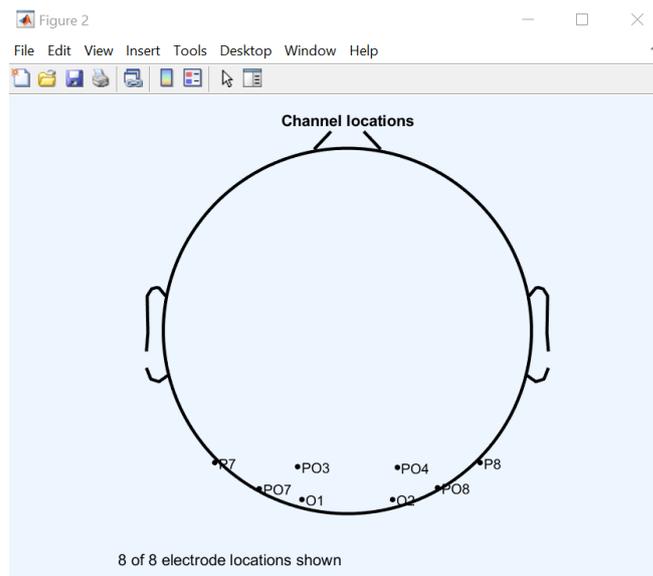


Fig.37 Mappa di localizzazione degli elettrodi per nome

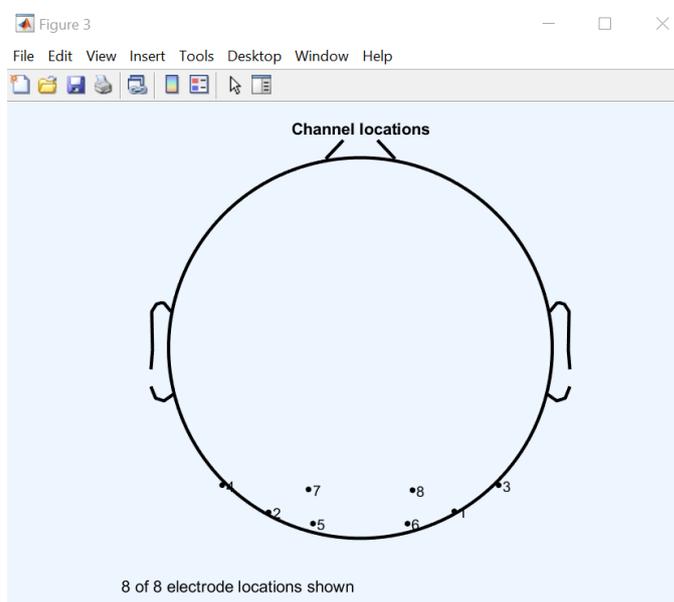


Fig.38 Mappa di localizzazione degli elettrodi per numero

Un passaggio fondamentale concernente il pre-processamento è il filtraggio del segnale EEG in possesso. Per fare ciò selezionare **Tools** → **Filter the data** → **Basic FIR filter (new, default)**. Nella finestra che comparirà a schermo dovremo inserire gli estremi della banda passante di interesse del nostro segnale. In particolare, nella casella bianca a destra della dicitura **Lower edge of the frequency pass band (Hz)**, bisognerà immettere la frequenza di cut-off inferiore mentre, nella casella sottostante, al lato della scritta **Higher edge of the frequency pass band (Hz)**, si dovrà settare la frequenza di cut-off superiore (Fig.39). Lasciando vuoto il campo **FIR Filter Order**, EEGLab calcolerà in automatico l'ordine di filtro necessario alle specifiche di filtraggio fissate. Nel nostro caso abbiamo selezionato la banda passante con estremi 1 Hz e 70 Hz. In seguito all'immissione dei valori cliccare il tasto **Ok**.

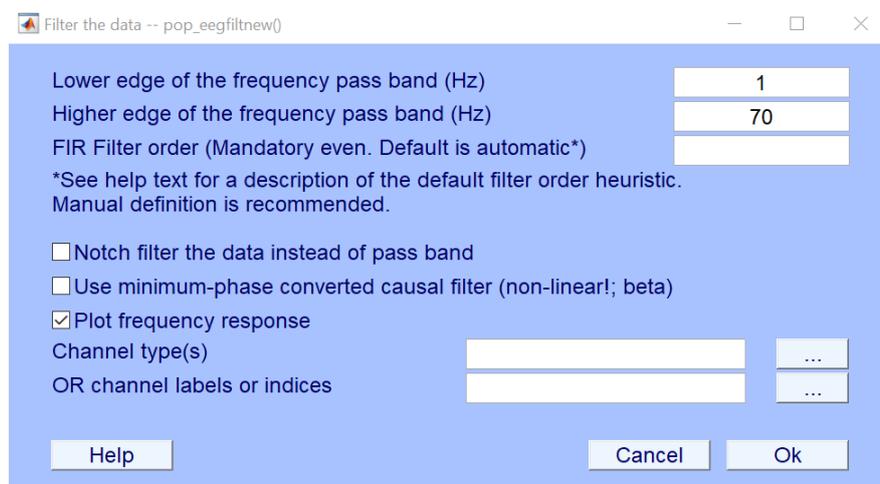


Fig.39 Finestra per il filtraggio dei dati

Al fine di rimuovere il rumore di linea che genera un disturbo sull'EEG, è possibile applicare al segnale un filtro notch che arresta solo la frequenza del rumore a 50 Hz e lascia passare le altre. Per ottenere questo, si dovrà selezionare nuovamente **Tools** → **Filter the data** → **Basic FIR filter (new, default)** e nella schermata che comparirà, occorrerà mettere la spunta inerente alla didascalia **Notch filter the data instead of pass band**. Successivamente bisognerà inserire una frequenza di taglio inferiore, di 48 Hz nella casella riferita al **Lower edge of the frequency pass band (Hz)** e una frequenza di taglio superiore, di 52 Hz in quella attinente alla casella **Higher edge of the frequency pass band (Hz)**. Al termine dell'inserimento premere il tasto **Ok**.

Il toolbox EEGLab include una funzione di MATLAB che esegue un algoritmo ICA sul segnale EEG. Per eseguire la decomposizione ICA, dal menù di EEGLab, si deve selezionare: **Tools** → **Decompose data by ICA**. EEGLab risponderà visualizzando a video la seguente finestra (Fig.40):

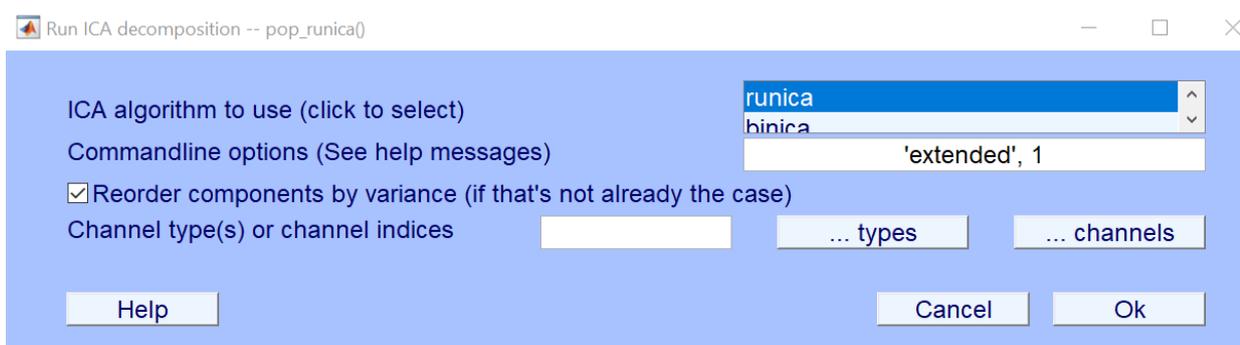


Fig.40 Finestra per l'importazione dei parametri ICA

Dal menù a discesa **ICA algorithm to use** sarà possibile selezionare l'algoritmo da utilizzare. Sarà poi necessario cliccare sul tasto **channels** e selezionare tutti i canali sui quali eseguire l'algoritmo. Per dare inizio all'analisi occorre cliccare su **Ok**. Nella Command Window di MATLAB si avrà una successione di operazioni, dalla quale si può subito notare l'andamento iterativo del processo di decomposizione utilizzato dall'algoritmo ICA, il quale terminerà a seguito di qualche centinaio di step.

L'analisi delle componenti ICA può essere utilizzata per rimuovere artefatti incorporati nei dati senza rimuovere i dati di interesse. Dopo aver effettuato il filtraggio tra 1 Hz e 70 Hz, potrà effettuare uno studio delle componenti indipendenti, al fine di valutare le loro proprietà e individuare quelle da sottrarre dal segnale. Sarà necessario quindi, selezionare dal menù: **Tools** → **Classify components using ICLabel** → **Label components**.

Per effettuare la rimozione delle componenti che presentano artefatti con una soglia elevata, dovrò selezionare dal menù di EEGLab **Tools** → **Remove components from data**. Comparirà una finestra all'interno della quale, nella casella bianca a destra della dicitura **List of component(s) to remove from data**, inserirò il/i numeri corrispondenti alle componenti indipendenti che voglio rimuovere dal segnale.

Al compimento del pre-processamento del segnale EEG, se tutti gli step sono stati completati correttamente, nel menù di EEGLab comparirà la dicitura **Yes** di lato alla scritta **Channel locations** e **ICA weights**. (Fig. 41)

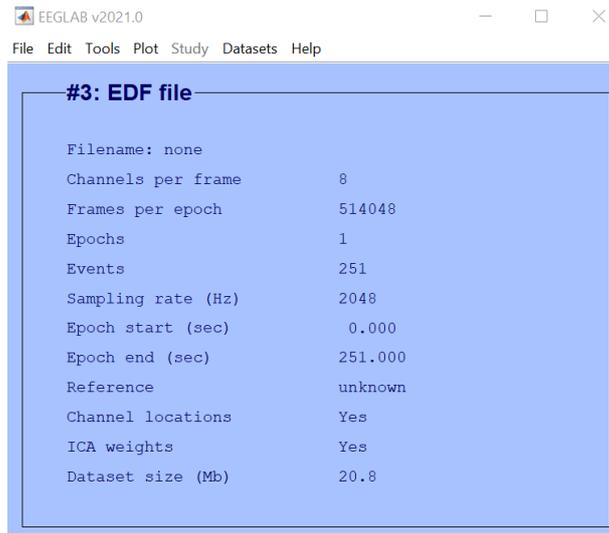


Fig.41 Finestra riepilogo del pre-processamento

EEGLab mette a disposizione diverse funzionalità di plotting utili per graficare il segnale EEG. Una di queste funzionalità permette di visualizzare l'andamento dei singoli canali che compongono il segnale EEG. Per eseguire tale tipo di plottaggio occorre selezionare dal menù di EEGLab: **Plot** → **Channel data (scroll)**.

Le componenti Delta, Teta, Alfa e Beta, oltre ad essere caratteristiche di un particolare stato fisico e psicologico, agiscono ognuna in un proprio range frequenziale. Esse possono essere estratte eseguendo delle opportune operazioni di filtraggio sul segnale EEG. Per eseguire un'operazione di filtraggio di tipo FIR sarà necessario selezionare dal menù di EEGLab i comandi: **Tool** → **Filter the Data** → **Basic FIR Filter (new, default)**. EEGLab risponderà visualizzando a video la finestra, dove è possibile settare la frequenza di cut-off inferiore (**Lower edge of the frequency pass band**), quella superiore (**Higher edge of the frequency pass band**) e l'ordine del filtro. Una volta impostate le specifiche di filtraggio, cliccando su **Ok**, EEGLab ci presenterà una seconda finestra relativa al setting del nuovo dataset che verrà creato con l'operazione di filtraggio. In tale finestra potremo inserire vari parametri quali, il nome del nuovo dataset e il percorso per un suo eventuale salvataggio. Le frequenze di taglio utilizzate per l'estrazione dei ritmi sono rispettivamente 0,5 Hz – 3 Hz per l'onda Delta, 4 Hz – 8 Hz per l'onda Teta, 8 Hz – 13 Hz per l'onda Alfa e 14 Hz – 30 Hz per l'onda Beta.

Per individuare le componenti maggiormente significative e l'elettrodo che registra componenti a maggiore potenza, ad una data frequenza, è possibile utilizzare la funzione di plottaggio Components spectra and maps. Per eseguire tale funzione, che sarà applicata al segnale filtrato, sarà necessario selezionare dal menù di EEGLab i comandi: **Plot** → **Components spectra and maps**. (Fig.42)

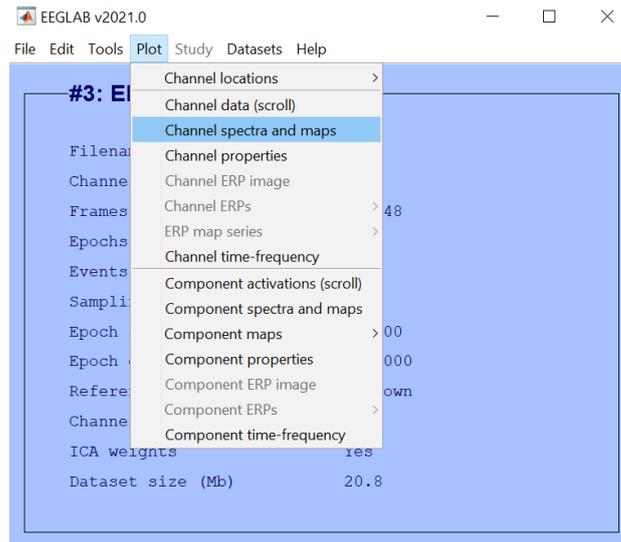


Fig.42 Procedura di esecuzione della funzione Components spectra and maps

EEGLab risponderà visualizzando a video la seguente finestra, dove è possibile eseguire il setting della funzione. (Fig.43)

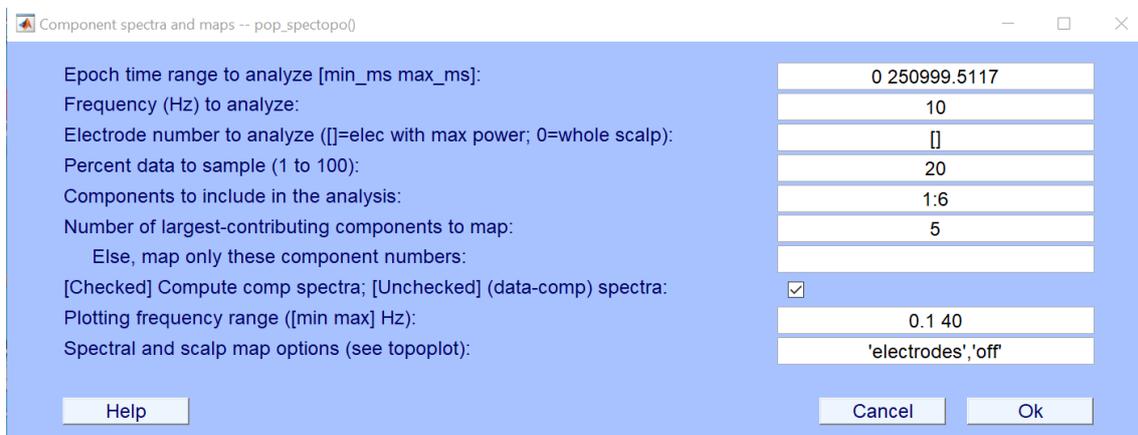


Fig.43 Finestra di setting della funzione Components spectra and maps

Nella finestra di testo individuata dall'etichetta **Frequency (Hz) to analyze** è possibile impostare la frequenza d'interesse per l'analisi. Nella finestra di testo dov'è presente l'etichetta **Electrode number to analyze**, inserendo una coppia di parentesi quadre (aperta e chiusa), si indicherà ad EEGLab di effettuare la ricerca per individuare l'elettrodo che registra componenti a maggiore potenza. Nello spazio relativo all'etichetta **Components to include in the Analysis** si potranno indicare gli elettrodi da includere nell'analisi (nella nostra casistica gli elettrodi da 1 a 6). Nella sezione individuata dall'etichetta **Number of largest-contributing components to map** è possibile indicare il numero delle mappe relative alle componenti maggiormente significative da rappresentare

nel grafico. Nella finestra di testo individuata dall'etichetta **Plotting frequency range ([min max] Hz)** si indicherà l'intervallo di frequenza (in Hz) che verrà plottato nel grafico. Una volta impostate le specifiche di plottaggio del grafico, bisognerà cliccare su **Ok**.

Per studiare la dinamica EEG correlata all'evento dei dati registrati, dobbiamo per primo luogo estrarre le epoche dei dati sincronizzate con gli eventi di interesse (ad esempio, le epoche dei dati vincolate all'insorgenza di una classe di stimoli sperimentali) selezionando **Tools** → **Extract Epochs** dall'interfaccia utente principale di EEGLab. EEGLab risponderà visualizzando a video la seguente finestra, dove è possibile estrarre le epoche. (Fig.44)

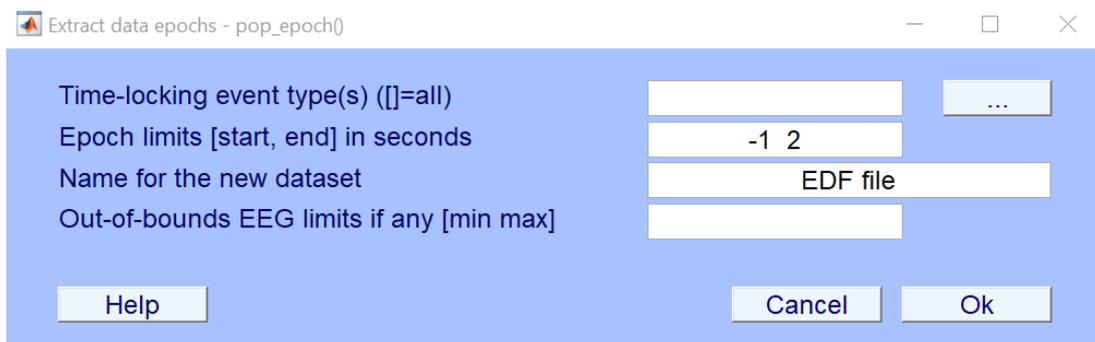


Fig.44 Finestra estrazione epoche

Qui, si dovranno mantenere i limiti di epoca predefiniti da 1 s prima a 2 s dopo l'evento temporale. Se si desidera, si può aggiungere un nome descrittivo per il nuovo set di dati. Quindi premere **Ok**. Apparirà una nuova finestra, che offre un'altra possibilità di cambiare il nome del set di dati e/o salvare il set di dati su un file su disco. Si dovrà accettare le impostazioni predefinite e premere su **Ok**. Verrà quindi visualizzata un'altra finestra per facilitare la rimozione degli offset della linea di base dell'epoca di non interesse. (Fig.45)

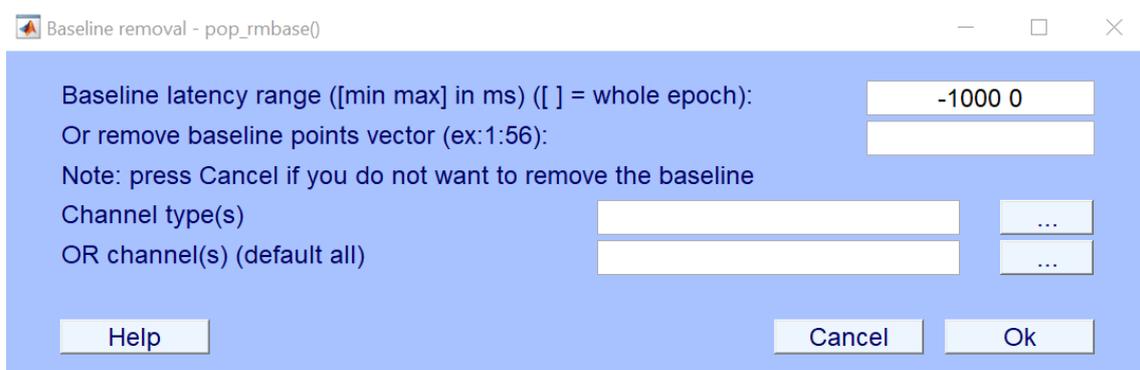


Fig.45 Finestra rimozione della baseline

In questa schermata si potrà specificare il periodo della linea di base in ogni epoca in millisecondi. Il set di dati originale viene sovrascritto dal set di dati rimosso dalla linea di base. Per impostazione predefinita, la rimozione della linea di base verrà applicata a tutti i canali. Tuttavia, si può anche scegliere canali specifici per tipo (può essere specificato durante la modifica delle informazioni sul canale) o selezionarli manualmente. Fare clic sui pulsanti “...” per visualizzare l'elenco dei tipi/canali disponibili per la selezione. In seguito, si dovrà premere **Ok** per sottrarre la linea di base (o **Cancel** per non rimuovere la linea di base). Verrà visualizzata una nuova finestra per modificare il nome del set di dati e/o salvare il set di dati su un file su disco. Bisognerà accettare le impostazioni predefinite e cliccare **Ok**.

Successivamente all'estrazione delle epoche è possibile condurre uno studio riguardante l'analisi di un ERP. Quest'ultimo è una risposta cerebrale misurabile, che si forma direttamente come risultato di un pensiero oppure di una percezione. Rappresenta qualsiasi risposta elettrofisiologica a uno stimolo interno oppure esterno.

Per tracciare un'immagine ERP, bisognerà selezionare **Plot** → **Channel ERP image**. EEGLab risponderà visualizzando a video la seguente finestra (Fig.46). Nella finestra visualizzata dobbiamo prima scegliere un canale da tracciare. Per far ciò occorre immettere il numero del canale, 1 nel nostro caso corrispondente all'elettrodo in posizione PO8, oppure fare clic sul pulsante “...” per selezionare direttamente il nome del canale. Successivamente si dovrà inserire un valore di prova di 1 e infine i limiti nella finestra temporale in millisecondi (ms). Terminate le procedure premere **Ok**.

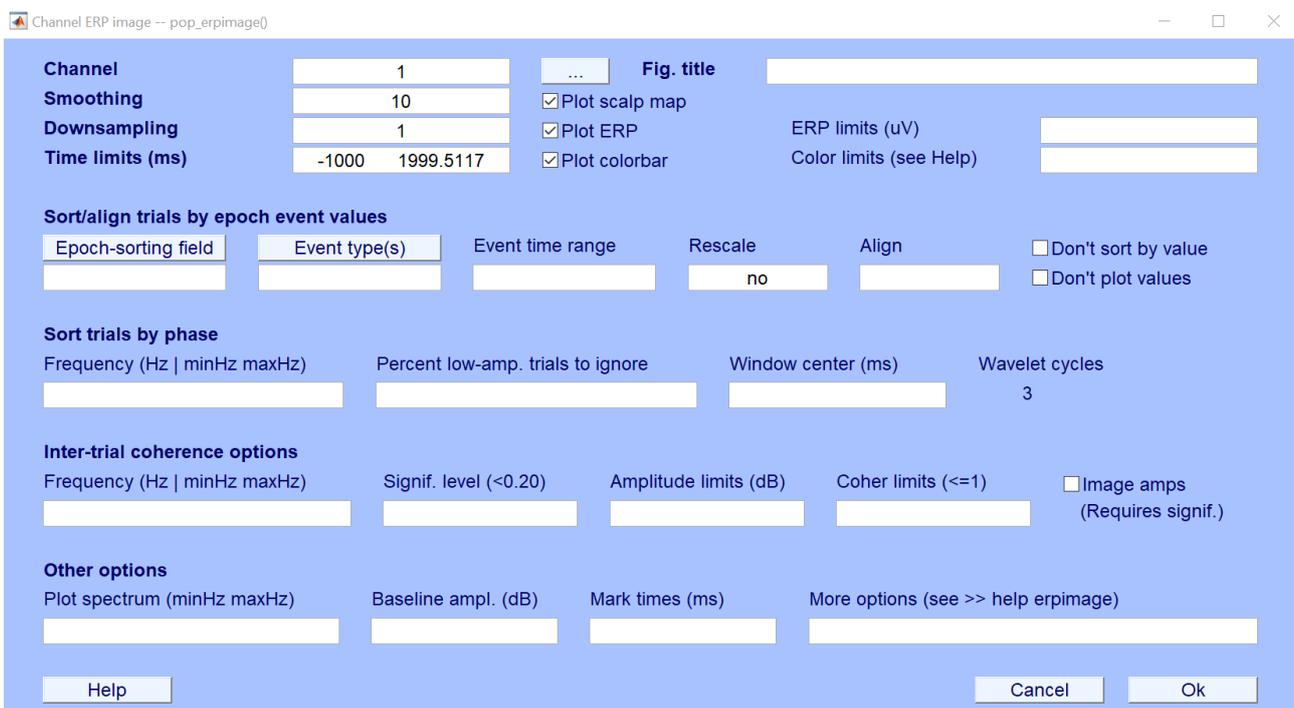


Fig.46 Finestra di setting degli ERP

### 4.3 Descrizione risultati

A seguito dell'analisi delle ICA, sono state individuate le componenti da sottrarre dal segnale presentanti artefatti con un alto valore. In particolare, sono state eliminate le componenti 2 e 6, perché la 2 presentava rumore di linea pari al 45.4%, mentre la 6 presentava altri rumori indefiniti pari al 80.8%. La percentuale delle varie componenti indipendenti è riportata nella seguente figura. (Fig.47)

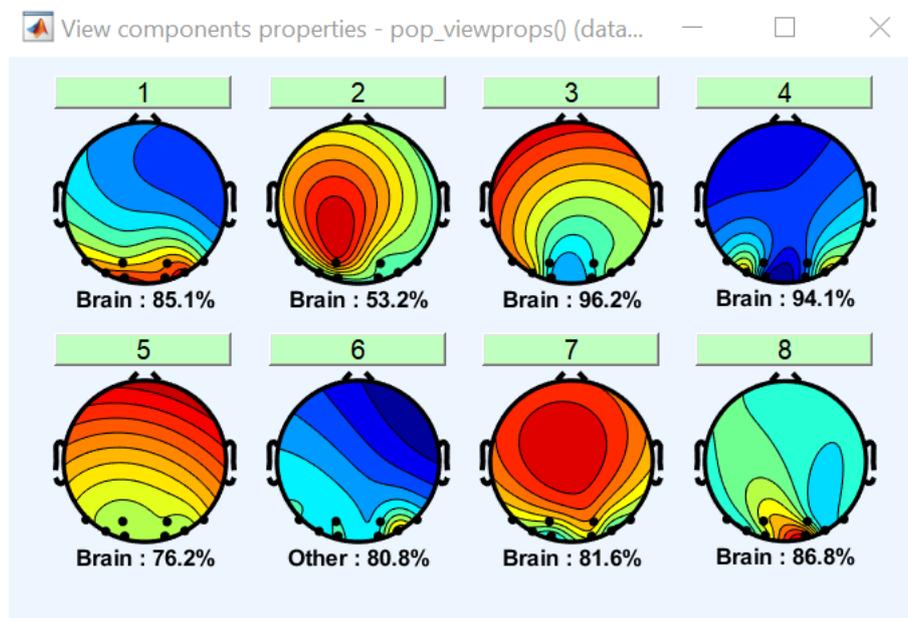


Fig.47 Figura delle proprietà delle componenti indipendenti

Al fine di individuare le componenti maggiormente significative e l'elettrodo che registra componenti a maggiore potenza, ad una data frequenza, è possibile utilizzare la funzione di plottaggio **Components spectra and maps**. Questo tipo di analisi è possibile effettuarla per il segnale EEG oppure per i ritmi cerebrali (Delta, Teta, Alfa, Beta). Una volta impostate le specifiche di plottaggio del grafico, EEGLab presenterà la seguente finestra col risultato dell'elaborazione. (Fig.48)

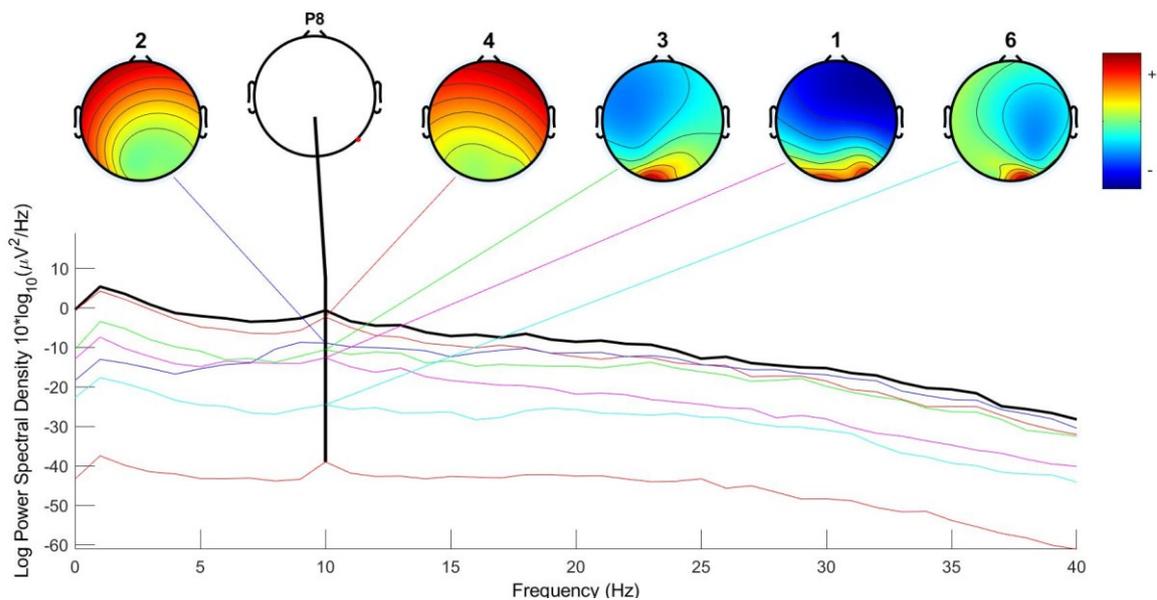


Fig.48 Finestra delle Componenti spectra and maps

In tale finestra sono evidenziate le componenti che, nel range frequenziale fissato, hanno maggiore peso (nel caso in esame le componenti **2, 4, 3, 1, 6**) e l'elettrodo che, nel range frequenziale fissato, registra componenti a maggiore potenza (nel caso in esame l'elettrodo **P8**). Sempre nella stessa finestra è inoltre rappresentato l'andamento in frequenza di tutte e otto le componenti dell'EEG attraverso differenti colorazioni.

Ogni traccia colorata rappresenta lo spettro dell'attività di un canale dati. Sull'asse delle ascisse vengono rappresentate le varie frequenze da 0.1 Hz a 40 Hz, mentre sull'asse delle ordinate è presente la densità di potenza spettrale. Di quest'ultimo termine ogni parola indica una proprietà fondamentale: "Potenza" indica che l'ampiezza è il valore quadratico medio del segnale che si analizza, "Spettrale" specifica che la densità di potenza spettrale è una funzione della frequenza e "Densità" si riferisce al fatto che l'ampiezza è normalizzata ad una banda di un singolo Hz.

Rappresentare lo spettro di potenza di una componente indipendente sulle varie zone dello scalpo, quindi, significa correlare la potenza erogata nell'intero arco di tempo considerato per l'analisi da ogni singola componente indipendente, alle varie aree dello scalpo. Quindi viene raffigurata come varia la potenza erogata dalla singola componente indipendente, al variare dell'area di scalpo considerata. In tali mappe sarà rappresentato, con una scala di colori, lo spettro di potenza che ogni componente indipendente ha sulle varie zone dello scalpo. I colori, come indicato dalla color - bar presente in alto a destra della figura, variano dal rosso (potenza più alta) fino ad arrivare al blu (potenza più bassa).

Da tali mappe, operando un confronto con la mappa topografica della posizione degli elettrodi, è possibile determinare quali componenti sono maggiormente attive in una determinata zona dello scalpo. Basandoci sul principio che il colore rosso indica componente con spettro più alto fino ad arrivare al blu con il più basso, nel caso particolare di un'analisi relativa alla frequenza di 10 Hz, è possibile desumere che in particolar modo le componenti **3**, **1**, e **6** sono maggiormente attive nelle zone dello scalpo corrispondenti agli elettrodi posti nella zona occipitale del cranio.

La figura seguente spiega il processo di costruzione di grafici di immagini ERP. Invece di rappresentare l'attività elettrica come tracce da sinistra a destra in cui il potenziale è codificato dall'altezza della traccia, si codificheranno le tracce in linee rette da sinistra a destra dove il colore che cambia, indica il valore del potenziale in ogni momento del processo. Ad esempio, nell'immagine seguente, tre diverse epoche di segnali EEG (tracce blu) verrebbero codificate come tre diverse linee colorate (sottostanti al tracciato EEG). (Fig.49)

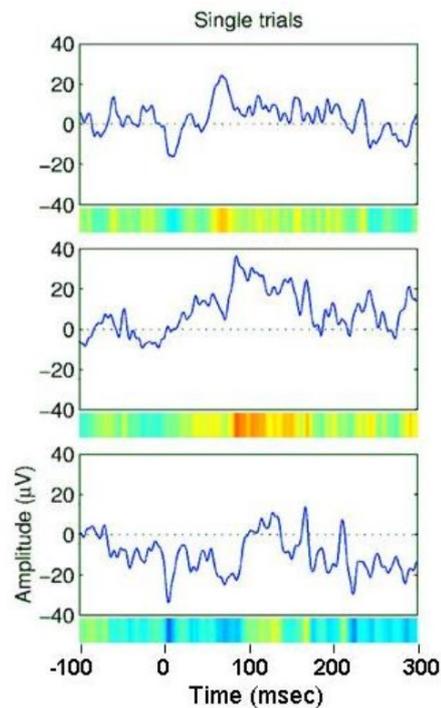


Fig.49 Processo di costruzione generico di grafici di immagini ERP

Un'immagine ERP è una figura rettangolare colorata in cui ogni linea orizzontale rappresenta l'attività che si verifica in una singola prova sperimentale. Impilando l'una sopra l'altra le linee della sequenza di colori per tutte le prove in un set di dati, produciamo un'immagine ERP. (Fig.50)

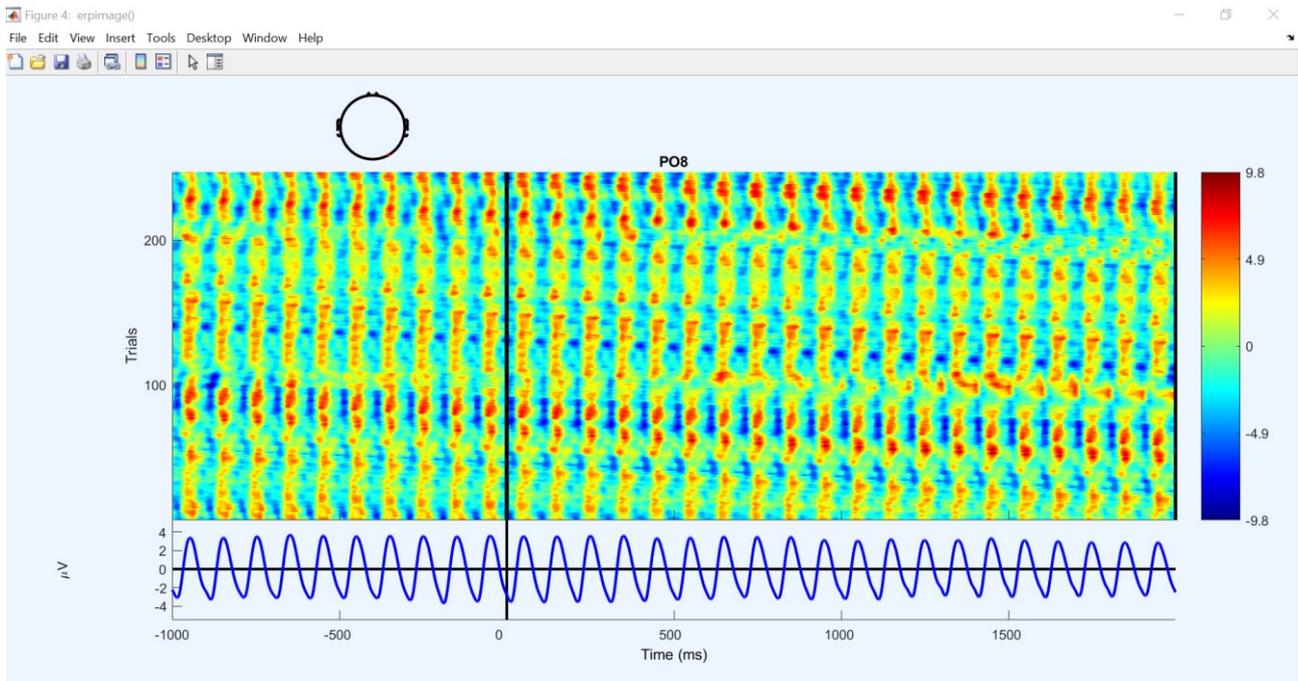


Fig.50 Immagine ERP con codifica colore (superiormente) e tracciato ERP nel dominio del tempo (inferiormente)

L'ERP rappresenta la parte del segnale che è sincronizzata temporalmente e in fase all'evento. Gli ERP possono essere tracciati nel dominio del tempo e nel dominio spaziale attraverso il cuoio capelluto se è stato utilizzato un numero sufficiente di sensori durante la registrazione. Come mostrato in Fig.50, gli ERP sono tipicamente tracciati nel tempo, dove il tempo zero denota l'inizio dell'evento. Quindi, sull'asse x è rappresentato il tempo in millisecondi, mentre sull'asse y vi sono rappresentate le variazioni di microvolt rispetto allo zero (dove zero rappresenta la tensione media attraverso un opportuno segmento di base). Nel grafico superiore vi è raffigurata una codifica colore che va dal blu al rosso scuro. Nelle zone in cui è presente il colore rosso si registra un aumento dell'intensità dell'attività cerebrale, mentre nelle regioni del grafico in cui vi è il colore verde e blu, il potenziale registrato non è significativo. È possibile notare la corrispondenza e anche la periodicità tra le aree rosse del grafico con codifica colore e i picchi massimi della forma d'onda ERP. Si registra quindi nell'arco temporale di 3000 ms una ciclicità di 30 picchi massimi della forma d'onda ERP. Sull'immagine ERP è inclusa anche l'etichetta che denota la posizione del sensore sulla testa. In particolare, il grafico della testa, in alto a sinistra contenente un punto rosso indica la posizione del canale selezionato nella registrazione.

## 4.5 Discussione risultati

Il database utilizzato nel metodo proposto conteneva segnali EEG acquisiti da soggetti sani a causa della mancanza in letteratura scientifica di dati EEG registrati di pazienti contagiati. La scelta di selezionare comunque soggetti sani è stata motivata dal fatto che, alla base del protocollo di analisi esiste la potenzialità di poter essere tranquillamente proposto per una popolazione di soggetti covid. Le tecniche dell'EEG e dell'ERP forniscono informazioni uniche sul funzionamento tipico della mente umana e questi metodi svolgono anche un ruolo importante negli sforzi per comprendere, diagnosticare e trattare una varietà di condizioni psicologiche e neurologiche che causano enormi sofferenze umane.

Questo tipo di protocollo potrebbe essere utile in quanto, un'analisi di questo genere attraverso uno specifico evento sensoriale, cognitivo o motorio, può mettere in luce come la capacità cognitiva di un soggetto varia a seguito di un contagio da SARS-CoV-2. Il metodo evidenzerebbe la variazione dell'intensità dell'attività cerebrale di chi, a seguito dell'infezione ha manifestato l'encefalopatia, ovvero uno stato di confusione mentale, con perdita di attenzione e memoria, che nei casi più gravi porta a un'alterazione dello stato di coscienza e al coma. Tra gli altri disturbi associati a Covid-19 potrebbe essere utile studiare il potenziale registrato di coloro che hanno contratto la cefalea, che nella metà dei casi diventava cronica, e i disturbi cognitivi definiti anche come "nebbia cognitiva" che causano ai pazienti una lieve compromissione delle capacità mentali, con un impatto comunque significativo sulla sfera emotiva dei contagiati. L'aspetto ancora più problematico per molte di queste persone, è che questi disturbi cognitivi possono persistere per settimane o anche mesi dopo l'infezione iniziale.

Nella fase iniziale di pre-processamento è stata necessaria l'operazione di filtraggio del dato. I filtri digitali vengono generalmente utilizzati per migliorare il rapporto segnale-rumore, attenuando quelle frequenze che si ritiene siano rumorose (ad esempio, potenziali della pelle a bassa frequenza, attività elettromiografica ad alta frequenza, rumore di linea a 50/60 Hz). L'obiettivo generale è ottimizzare il rapporto segnale-rumore e, allo stesso tempo, ridurre le distorsioni del segnale.

Il tool EEGLab permette di effettuare un'elaborazione frequenziale del segnale e di implementare dei filtri numerici FIR (Finite Impulsive Response) passa banda particolarizzati. Un filtro numerico FIR è un algoritmo che agisce su un set di campioni e ne produce un altro che identifica la funzione d'onda del segnale filtrato. Il filtro utilizzato può essere descritto in termini di banda passante. La banda passante indica la parte dello spettro di frequenza che non viene attenuata dal filtro. Il resto dello spettro di frequenza, che viene attenuato dal filtro, è indicato come banda di arresto. I filtri più comuni utilizzati con i dati EEG sono i filtri passa-alto e passa-basso, che attenuano rispettivamente le

frequenze basse e alte. Ad esempio, nel caso del metodo proposto, un filtro passa-alto con una frequenza di taglio di 1 Hz verrebbe utilizzato per attenuare le componenti di frequenza inferiori a 1 Hz, mentre lascerebbe inalterate le componenti di frequenza superiori a 1 Hz. Invece, un filtro passa-basso con una frequenza di taglio di 70 Hz verrebbe impiegato per elidere le componenti in frequenza superiori a 70 Hz e far passare quelle inferiori a 70 Hz. Ciò ci permette successivamente di lavorare nel range di interesse per un dato EEG, ovvero tra 1 Hz e 70 Hz.

I segnali registrati utilizzando sensori biologici e altri dispositivi ad alta impedenza, sono spesso contaminati dal rumore a 50 Hz che corrompe il contenuto di questi segnali e degrada la qualità della successiva analisi dei dati. I segnali EEG sono spesso danneggiati dal rumore elettrico proveniente da diversi fonti, quali alimentazione elettrica adiacente e linee elettriche nelle vicinanze dell'attrezzatura usata. Poiché la componente utile del segnale EEG è generalmente una tensione molto bassa, è altamente sensibile al rumore introdotto da queste fonti. Per ridurre il rumore della linea di alimentazione in un segnale EEG disturbato, nel metodo di analisi proposto, viene utilizzato un filtro notch a banda stretta. Tale filtro notch deve essere molto selettivo, cioè avere una larghezza di banda molto sottile per evitare di filtrare le componenti desiderate del segnale EEG. Tuttavia, l'uso di filtri notch a banda stretta è di utilità limitata, perché a volte la frequenza di un rumore della linea di alimentazione può variare intorno a 50 Hz. Ecco perché è necessario un filtro a banda stretta con una frequenza di notch fissa che sia relativamente a banda larga per ridurre il rumore indotto dalla linea elettrica. In seguito a queste considerazioni, è stato applicato un filtro notch tra 48 e 52 Hz per arrestare solo la frequenza del rumore e lasciare passare le altre.

L'analisi delle ICA può essere utilizzata per rimuovere/sottrarre artefatti incorporati nei dati (muscoli, battiti di ciglia o movimenti oculari) senza rimuovere le parti di dati interessate. Un esempio della applicazione degli algoritmi ICA è nel campo della elettroencefalografia, gli EEG sono registrazione della differenza di potenziale tra varie aree dello scalpo, generata dalla corteccia cerebrale e trasmessa attraverso le meningi ed il cranio. I segnali elettrici che si originano dal cervello vengono molto attenuati quando vengono registrati sullo scalpo (perché attraversano le meningi, il liquido cefalorachidiano, la calotta cranica e la cute dello scalpo), con potenziali che scendono al livello del microvolt ( $\mu\text{V}$ ), ed esistono forti componenti indesiderate derivate dai movimenti oculari e dai muscoli facciali, temporali e frontali.

Al fine di elidere gli artefatti che generano disturbo nel mio segnale, è possibile rimuovere determinate componenti ICA, manualmente o utilizzando un metodo automatico, che presentano elementi di disturbo con un alto valore. Nel nostro caso in particolare sono state rimosse le componenti 2 e 6 in quanto presentavano alto valore di linea e di rumore indefinito. Si ottiene in tal

modo un segnale EEG privo di componenti artefattuali che potrebbero inficiare sulla corretta analisi del dato reale.

Per individuare le componenti maggiormente significative e l'elettrodo che registra componenti a maggiore potenza, ad una data frequenza, è possibile utilizzare la funzione di plottaggio Components spectra and maps. Come risultato dell'operazione saranno mostrate a schermo delle mappe topografiche dove sarà rappresentato, con una scala di colori, lo spettro di potenza che ogni componente indipendente ha sulle varie zone dello scalpo. I colori variano dal rosso (potenza più alta) fino ad arrivare al blu (potenza più bassa). Grazie a questa funzione di EEGLab è possibile risalire alla zona dello scalpo dove si registra maggiore attività, ciò ci permetterebbe di delineare l'intensità dell'attività elettrica con la quale il sistema nervoso risponde a un particolare stimolo esterno. Nel caso del metodo proposto, questo tipo di analisi potrebbe essere utile, nel caso di paziente contagiato dal virus, a identificare quelle aree dello scalpo che a seguito di infezione, subiscono variazioni sostanziali a livello di intensità dell'attività cerebrale.

Una tipologia di studio che può essere condotta sui tracciati EEG riguarda gli ERP, queste sono tensioni molto piccole generate nelle strutture cerebrali in risposta a eventi o stimoli specifici. La genesi degli ERP è funzione del contesto psicologico (evento) in cui avviene la stimolazione. La loro latenza è nell'ambito temporale dei fenomeni legati all'attenzione e alla cognizione. Tali potenziali, dipendono dal contenuto informativo dello stimolo e compaiono solo quando il soggetto presta attenzione allo stimolo stesso e gli attribuisce un significato. L'ERP può essere suscitato da un'ampia varietà di eventi sensoriali, cognitivi o motori. Questi riflettono l'attività sommata dei potenziali postsinaptici prodotti quando un gran numero di neuroni piramidali corticali orientati in modo simile (nell'ordine di migliaia o milioni) si attivano in sincronia durante l'elaborazione delle informazioni. Gli ERP negli esseri umani possono essere suddivisi in 2 categorie. Le prime onde, o componenti che raggiungono un picco all'incirca entro i primi 100 ms dopo lo stimolo, sono definite "sensoriali" o "esogene" poiché dipendono in gran parte dai parametri fisici dello stimolo (ad es. colore, dimensione, forma, posizione, orientamento). Al contrario, gli ERP generati successivamente riflettono il modo in cui il soggetto valuta lo stimolo e sono definiti ERP "cognitivi" o "endogeni" quando esaminano l'elaborazione delle informazioni.

La forma d'onda ERP consiste tipicamente in una sequenza di deflessioni di tensione positiva e negativa, che varia nell'ampiezza e distribuzione topografica attraverso il cuoio capelluto in un dato momento. La forma specifica dell'onda è correlata alla natura dell'evento, alla tipologia del compito ed è dipendente dai partecipanti (ad esempio, la loro età o il loro stato di salute). La forma d'onda ERP può essere suddivisa in segmenti temporali, chiamati componenti, in base ai picchi e alle depressioni evidenti in tutta la forma d'onda ERP.

I segnali ERP sono fondamentali nel campo delle neuroscienze poiché aiutano a comprendere come le funzioni cognitive, e le relative manifestazioni in comportamenti ed esperienze soggettive, sono correlate all'attività cerebrale. Le componenti che caratterizzano il potenziale evocato sono collegate alle varie funzioni cerebrali e possono essere definite in termini di funzioni cognitive derivanti dall'attività cerebrale registrata sullo scalpo. I potenziali evocati esaminano l'integrità delle vie di conduzione nervosa periferiche e centrali. La forma e la latenza del potenziale possono rivelare alterazioni delle vie afferenti e permettono di evidenziare un difetto sensoriale, quantificandone anche l'entità. Tale metodica risulta ad esempio utile per lo studio delle lesioni sistemiche afferenti del sistema nervoso, causate da patologie croniche degenerative.

Questo protocollo può essere utile da applicare nei soggetti covid perché ci consente di mettere in luce certe caratteristiche in maniera automatica tramite il tool di EEGLab. Infatti, potrebbe essere vantaggioso anche nello studio di singoli ritmi cerebrali come l'onda alfa e beta e quindi, in particolari stadi di veglia del soggetto. In relazione al metodo proposto sarebbe utile riuscire a definire come il virus SARS-CoV-2 compromette la normale attività cerebrale di un paziente contagiato rispetto a un soggetto sano, nel caso in cui i due siano sottoposti al medesimo stimolo visivo. Sarebbe possibile attuare questa differenziazione grazie alla codifica colore del grafico ERP, nel quale nelle zone in cui è presente il colore rosso si registra un aumento dell'intensità dell'attività cerebrale, mentre nelle regioni del grafico in cui vi è il colore verde e blu, il potenziale registrato non è significativo. In seguito all'analisi, cambiamenti dell'attività elettrica, come per esempio aree del grafico in cui vi è maggior colore verde o blu rispetto a una condizione normale, potrebbero essere ricondotti a disturbi cognitivi a carico del sistema nervoso come nel caso della memoria, attenzione, orientamento o depressione.

## Conclusione

Lo scopo finale di questa tesi era proporre una metodologia che consentisse l'identificazione automatica delle complicanze a carico del sistema nervoso dovute al Covid-19. Tramite gli studi condotti da ricercatori su pazienti affetti da Sars-CoV-2, sono emerse sintomatologie inerenti al SNC e al SNP, di vario tipo e gravità che possono perdurare anche nel tempo. Il metodo proposto si basa sull'analisi dell'ERP, ovvero una risposta cerebrale misurabile, che si forma direttamente come risultato di un evento sensoriale, cognitivo o motorio. Questo protocollo, grazie alla lettura della codifica colore del grafico ERP risultante, potrebbe mettere in luce come la capacità cognitiva di un soggetto varia a seguito di un contagio da SARS-CoV-2. Infatti, variazioni dell'intensità dell'attività cerebrale, correlabili a cambiamenti di colore nel grafico, rapportate a un soggetto sano, aiuterebbero a delineare possibili deficit cognitivi come difficoltà a concentrarsi, disorientamento, confusione e stanchezza mentale.

# Bibliografia

- [1] Punzo O, Bella A, Riccardo F, et al. Tutto sulla pandemia di SARS-CoV-2, Epicentro, 2020
- [2] Il nuovo coronavirus cambia nome, non più 2019-nCoV ma SARS-CoV-2, Ministero della salute, pagina web, 2020
- [3] Covid-19 - Situazione nel mondo, Ministero della Salute, pagina web, 2021
- [4] Balboni G, Motta P, Anastasi G, et al. Anatomia umana, Edi. Ermes, III edizione, 2000
- [5] Rosati P, Colombo R, Maraldi N, et al. Istologia, Edi. Ermes, IV edizione, 2007
- [6] Ambrosi G, Castano P, Donato F, et. al. Anatomia dell'uomo, Edi. Ermes, II edizione, 2006
- [7] Cattaneo L, Anatomia del sistema nervoso centrale e periferico dell'uomo, Monduzzi editore, II edizione, 1989
- [8] Schomer D, Lopes da Silva F, Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields, VII edizione, 2004
- [9] Avanzolini G, Magosso E, Strumentazione biomedica. Progetto e impiego dei sistemi di misura, Pàtron editore, III edizione, 2007
- [10] Nunez P, Srinivasan R, Electric Fields of the Brain: The Neurophysics of EEG, Oxford University Press, I edizione, 2006
- [11] Nunez P, Neocortical Dynamics and Human EEG Rhythms. Oxford University Press, I edizione, 1995
- [12] Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report, Organizzazione Mondiale della Sanità, pagina web, 2020
- [13] Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study, in The Lancet, Frontiers of medicine, 2020
- [14] Wu C, Liu Y, Yang Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods, Acta Pharmaceutica Sinica B, 2020
- [15] Yuan H, Chan Y, Xin-feng X, et al. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19, Acta Pharmacologica Sinica, 2020
- [16] Syed F, Hamad Z, Muhammad N, et al. COVID-19: A Global Challenge with Old History, Epidemiology and Progress So Far, Molecules, 2020
- [Fig.23] Yuefei J, Haiyan Y, Wangquan J, et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19, Viruses, 2020
- [17] Yuefei J, Haiyan Y, Wangquan J, et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19, Viruses, 2020
- [18] Covid-19 - Situazione nel mondo, Ministero della salute, pagina web, 2021
- [19] Chatziprodromidou J, Malamatenia A, Guitian J, et al. Global avian influenza outbreaks 2010–2016: a systematic review of their distribution, avian species and virus subtype, Systematic Reviews, 2018

- [20] Middleton J, Reintjes R, Lopes H, Meat plants a new front line in the covid-19 pandemic, *The BMJ*, 2020
- [21] Yan-Rong G, Qing-Dong C, Zhong-Si H, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status, *Military Medical Research*, 2020
- [22] Sonu S, Noreen R, Vikram M, Immune System Modulation and Viral Persistence in Bats: Understanding Viral Spillover, *Viruses* 2019
- [23] Tao Z, Qunfu W, Zhigang Z, Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak, *Current biology* 2020
- [24] Rizzoli M, *La salute prima di tutto*, Baldini + Castoldi, I edizione, 2020
- [Fig.27, 28, 29] Palmieri L, Agazio E, Barbariol P, Caratteristiche dei pazienti deceduti positivi all'infezione da SARS-CoV-2 in Italia, *Epicentro*, pagina web, 2021
- [25] Palmieri L, Agazio E, Barbariol P, Caratteristiche dei pazienti deceduti positivi all'infezione da SARS-CoV-2 in Italia, *Epicentro*, pagina web, 2021
- [26] Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), *World Health Organization*, pagina web, 2020
- [27] Hui S, Esam A, Eskild P, et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health — The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China, *International Journal of infectious diseases*, 2020
- [28] Bagnato S, Boccagni C, Marino G, et al. Critical illness myopathy after COVID-19, *International Journal of infectious diseases*, 2020
- [29] Greenwood B, *The contribution of vaccination to global health: past, present and future*, *Biological sciences*, 2014
- [30] Mao L, Jin H, Wang M, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China, *JAMA Neurology*, 2020
- [31] Silveira M, Schmidt G, Marcelo M, DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges, *Life sciences* 2020
- [32] Shanay R, Afjal, Abid H, et al. An update on the global vaccine development for coronavirus, *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 2020
- [33] Shuqin X, Kunpeng Y, Rose L, et al. mRNA Vaccine Era-Mechanisms, Drug Platform and Clinical Prospection, *Molecular Sciences*, 2020
- [34] Hodgson S, Kushal M, Mallett g, et al. What defines an efficacious COVID-19 vaccine? A review of the challenges assessing the clinical efficacy of vaccines against SARS-CoV-2, *The lancet*, 2020
- [35] Yumiko I, Keiji K, Shuan R, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure, *Nature* 2005
- [36] Dawei W, Bo H, Xing L, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China, *JAMA Network*, 2020
- [37] Zhe X, Lei S, Yijin W, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome, *The lancet*, 2020

- [38] Kacper L, Bartosz S, Jowita B, et al. COVID-19: The Potential Treatment of Pulmonary Fibrosis Associated with SARS-CoV-2 Infection, *Clinical Medicine*, 2020
- [39] Payal K, Bethany B, Viral infection and aging as cofactors for the development of pulmonary fibrosis, *Expert Review of Respiratory Medicine*, 2010
- [40] Das K, Lee E, Singh R, et al. Follow-up chest radiographic findings in patients with MERS-CoV after recovery, *Thieme*, 2017
- [41] Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, et al. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy, *Europe PMC*, 2020
- [42] Peixun Z, Jia L, Huixin L, et al. Long-term bone and lung consequences associated with hospital-acquired severe acute respiratory syndrome: a 15-year follow-up from a prospective cohort study, *Bone Research*, 2020
- [43] Qian W, Lingshan Z, Hongwei L, et al. Follow-Up Study of Lung Function and Chest Computed Tomography at 6 Months after Discharge in Patients with Coronavirus Disease 2019, *Canadian Respiratory Journal*, 2021
- [44] Pallanti S, Grassi E, Gasic G, et al. NeuroCOVID-19: A clinical neuroscience-based approach to reduce SARS-CoV-2 related mental health sequelae, *Journal of Psychiatric Research*, 2020
- [45] Rameshwar A, Santosh T, Rameshwar A, Neuroinvasive and Neurotropic Human Respiratory Coronaviruses: Potential Neurovirulent Agents in Humans, *Infectious Diseases and Nanomedicine*, 2014
- [46] Fodoulian, L, Tuberosa J, Rossier D, et al. SARS-CoV-2 receptor and entry genes are expressed by sustentacular cells in the human olfactory neuroepithelium, *Iscience*, 2020
- [47] Tassorelli C, Mojoli F, Baldanti F, et al. COVID-19: what if the brain had a role in causing the deaths? *European journal of neurology*, 2020
- [48] Alenina N, Bader M, ACE2 in Brain Physiology and Pathophysiology: Evidence from Transgenic Animal Models, *Neurochemical Research*, 2018
- [49] Steardo L J, Steardo L, Alexei V, Psychiatric face of COVID-19, *Translational Psychiatry*, 2020
- [50] Mao L, Jin H, Wang M, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol*, 2020
- [51] Vacchiano V, Riguzzi P, Volpi L, et al. Early neurological manifestations of hospitalized COVID-19 patients. *Neurol Science*, 2 giugno 2020
- [52] Bolay H, Gül A, Baykan B, COVID-19 is a Real Headache!, *Headache*, 2020
- [53] Larsen Á., Layos-Romero A, García-García J, et al. Neurologic Manifestations in Hospitalized Patients With COVID-19: The ALBACOVID Registry, *Neurology*. 2020
- [54] Degeneffe A, Bruneau M, Spitaels J, et al. Acute hemorrhage after intra-cerebral biopsy in COVID-19 patients: a report of 3 cases, *World Neurosurgery*, 2020
- [55] Chougar L, Mathon B, Weiss N, et al. Atypical Deep Cerebral Vein Thrombosis with Hemorrhagic Venous Infarction in a Patient Positive for COVID-19, *AJNR*, 2020
- [56] Collins A, Faden H, Howard F, et al. Detection of coronavirus in the central nervous system of a child with acute disseminated encephalomyelitis, *Pediatrics*, 2004

- [57] Abdi S, Ghorbani A, Fatehi F. The association of SARS-CoV-2 infection and acute disseminated encephalomyelitis without prominent clinical pulmonary symptoms, *Neurol Science*, 2020
- [58] Zhao K, Huang J, Dai D, et al. Acute myelitis after SARS-CoV-2 infection: a case report, *MedRxiv*, 2020
- [59] Ling M, Huijuan J, Mengdie W, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China, *JAMA Network*, 2020
- [60] Asadi-Pooya A, Seizures associated with coronavirus infections, *Seizure*, 2020
- [61] Radmanesh A, Derman A, Lui Y, et al. COVID-19 - associated Diffuse Leukoencephalopathy and Microhemorrhages, *Radiology*, 2020
- [62] Virhammar J, Kumlien E, Fällmar D, et al. Acute necrotizing encephalopathy with SARS-CoV-2 RNA confirmed in cerebrospinal fluid, *Neurology*, 2020
- [Fig.30] Moein ST, Hashemian SMR, Mansourafshar B, Khorram-Tousi A, Tabarsi P, Doty RL, Smell dysfunction: a biomarker for COVID-19, *Allergy & Rhinology* 2020
- [63] Moein S, Hashemian S, Mansourafshar B, et al. Smell dysfunction: a biomarker for COVID-19, *Allergy & Rhinology*, 2020
- [64] Princiotta Cariddi L, Tabaee Damavandi P, Carimati F, et al. Reversible Encephalopathy Syndrome (PRES) in a COVID-19 Patient, *Journal of Neurology*, 2020
- [65] Pilato M, Urban A, Alkawadri R, et al. EEG Findings in Coronavirus Disease, *Clinical Neurophysiology*, 2020
- [66] Pallanti S, Grassi E, Makris N, et al. Neurocovid-19: A clinical neuroscience-based approach to reduce SARS-CoV-2 related mental health sequelae, *Journal of Psychiatric Research*, 2020
- [67] Fotini B, Irimi L, Paraskevi P, et al. CSF and plasma cytokines at delivery and postpartum mood disturbances, *Journal of Affective Disorders*, 2008
- [68] Estivill-Torrús G, Cabezudo-García P, Ciano Petersen N, et al. Impact of SARS-CoV-2 infection on neurodegenerative and neuropsychiatric diseases: a delayed pandemic?, *Neurología*, 2020
- [69] Hua Z, Dingding S, Haiyan Z, Jun L, et al. Guillain-Barré syndrome associated with SARS-CoV-2 infection: causality or coincidence?, *The lancet*, 2020
- [70] Poli P, Matran-Fernandez A, Towards the automated localisation of targets in rapid image-sifting by collaborative brain-computer interfaces, *Plos one*, 2017