



UNIVERSITÀ DI PARMA

Dottorato di ricerca in Scienze Mediche e Chirurgiche Traslazionali – XXXVI ciclo
Coordinatore: Chiar.mo Prof. Nicola Sverzellati

**INFIAMMAZIONE VASCOLARE CORONARICA STIMATA
MEDIANTE L'ATTENUAZIONE PERI-VASCOLARE
CORONARICA ALLA TOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA
DEL TORACE NEI PAZIENTI RICOVERATI PER COVID-19 E
MORTALITÀ INTRAOSPEDALIERA.**

Relatore:

Chiar.mo Prof. FRANCESCO NICOLINI

Tutor:

Chiar.mo Prof. GIAMPAOLO NICCOLI

Dottorando:

Dott. DOMENICO TUTTOLOMONDO

ABSTRACT

Scopo

La malattia da coronavirus-19 (COVID-19) è una patologia infiammatoria sistemica con un decorso clinico estremamente eterogeneo e senza markers prognostici affidabili. L'obiettivo di questo studio è quello di chiarire il ruolo prognostico dell'infiammazione coronarica stimata mediante l'attenuazione del tessuto adiposo peri-coronarico (PCAT) sull'arteria discendente anteriore, per la prima volta eseguita alla tomografia computerizzata ad alta risoluzione (HRCT) del torace (non ECG-trigger e senza mezzo di contrasto), nei pazienti COVID-19 che necessitano di ospedalizzazione.

Materiali e metodi

Sono stati arruolati due gruppi distinti di pazienti affetti da COVID-19 nel marzo 2020 e nel marzo 2021 (picchi della prima e della terza ondata della pandemia di COVID-19 in Italia, con prevalenza rispettivamente della variante wild-type e B.1.1.7 SARS-CoV-2), ricoverati presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma. L'endpoint primario è la mortalità intra-ospedaliera. Sono stati raccolti dati demografici, clinici, di laboratorio, e variabili di imaging alla HRCT quale percentuale di coinvolgimento polmonare, calcium score coronarico (CAC) e PCAT.

Risultati

Sono stati arruolati 769 pazienti, 555 (72%) sono stati dimessi vivi e 214 (28%) sono deceduti durante il ricovero. All'analisi statistica di regressione logistica multivariabile l'età ($p < 0.001$), il numero di malattie croniche ($p < 0.001$), l'abitudine tabagica ($p = 0.006$), il rapporto P/F ($p = 0.001$), la conta piastrinica ($p = 0.002$), la creatinina sierica ($p < 0.001$), la ventilazione meccanica non-invasiva ($p < 0.001$), il "visual score" HRCT ($p < 0.001$) ed il PCAT ($p < 0.001$), ma non il CAC, sono risultati associati in modo indipendente alla mortalità intra-ospedaliera.

Conclusioni

Questo è il primo studio che dimostra che l'infiammazione coronarica stimata alla HRCT del torace è associata in modo indipendente alla mortalità nei pazienti ricoverati per COVID-19 differentemente dal burden aterosclerotico coronarico quantificato mediante il CAC.

INTRODUZIONE

Da febbraio 2020 fino a maggio 2021 l'Italia è stata colpita dalle tre ondate principali della pandemia di COronaVirus Disease 19 (COVID-19).

I pazienti in cui si è reso necessario il ricovero ospedaliero durante la prima ondata pandemica erano in genere caratterizzati da insufficienza respiratoria di grado severo, complicanze tromboemboliche, cardiache ed elevato rischio di mortalità intra-ospedaliera [1-4].

A partire da gennaio 2021 la nuova variante alfa (B.1.1.7 SARS-CoV-2 lineage) si è resa responsabile della terza ondata pandemica ed in Italia è diventata prevalente già da febbraio 2021 [5]. Il COVID-19 è una patologia sistemica a carattere infiammatorio soprattutto nelle forme gravi; infatti risponde non solamente ai farmaci anti-retrovirali, ma anche alla terapia immunomodulante ed anti-flogistica [6,7].

Fino al 45,3% dei pazienti ospedalizzati per COVID-19 presenta un danno miocardico documentato dall'incremento dei markers di citonecrosi miocardica (troponine cardiache) e ciò determina un peggioramento della prognosi con un incremento della mortalità intra-ospedaliera [1]. L'eziopatogenesi del danno miocardico può essere contestuale all'ipossia secondaria alla compromissione funzionale del parenchima polmonare che determina uno squilibrio tra fabbisogno ed apporto di ossigeno ai cardiomiociti con conseguente ischemia, un altro meccanismo causale può essere spiegato dal danno miocardico virale diretto, ovvero da localizzazione del virus nel tessuto cardiaco, ma attualmente l'ipotesi prevalente sembra essere la destabilizzazione di placca aterosclerotica secondaria al "cytokine storm" [8].

Il ruolo dell'infiammazione nella malattia aterosclerotica coronarica è noto anche perché è stato dimostrato che farmaci con azione immunosoppressiva, quali Canakinumab e Colchicina, utilizzati in profilassi secondaria, ovvero in pazienti con nota cardiopatia ischemica, hanno ridotto il rischio di recidiva di infarto miocardico acuto nei pazienti affetti da sindrome coronarica cronica [9,10].

E' quindi chiaro che esistono delle relazioni tra infiammazione e COVID-19 e tra infiammazione e cardiopatia ischemica ma al momento non è ancora stato chiarito il rapporto tra cuore e COVID-19 nonostante sia stato dimostrato che:

- I) il danno miocardico è un fattore prognosticamente sfavorevole nei pazienti affetti da COVID-19;
- II) i fattori di rischio cardiovascolare influenzano negativamente la prognosi nei pazienti affetti da COVID-19 [11].

L'attenuazione del tessuto adiposo peri-vascolare (PVAT) è un parametro non morfologico stimato su scansioni della tomografia computerizzata (TC) in fase di post-processing (offline) ovvero:

- I) non necessita di eseguire nuove scansioni TC;
- II) non determina un incremento dell'esposizione a radiazioni ionizzanti a carico del paziente;
- III) non modifica i costi relativi all'esame radiologico.

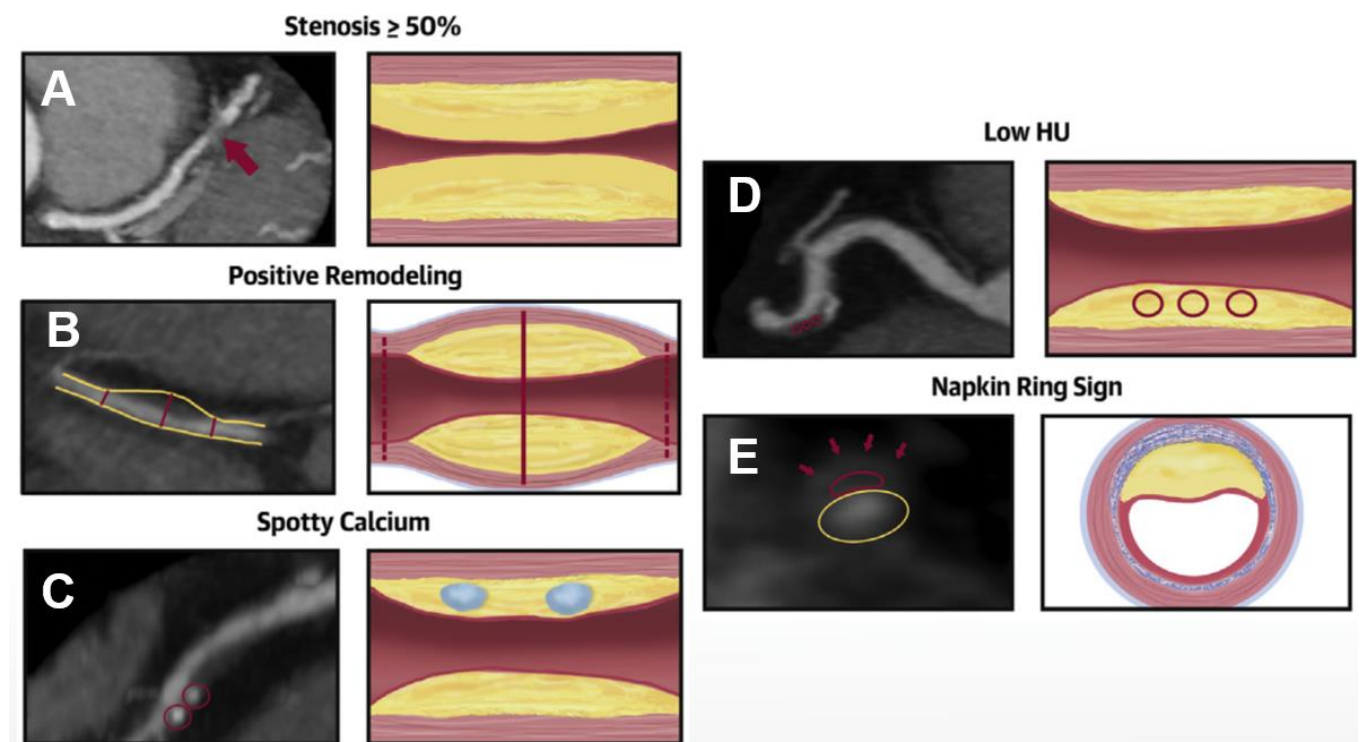
Il PVAT indica il grado di infiammazione vascolare localizzata la cui stima fino ad oggi era indagata solo mediante metodiche più complesse, invasive e rischiose per il paziente ed già stato applicato in multipli distretti vascolari quali aorta, arterie coronarie e arterie carotidee [12-16]. A livello istopatologico è stata dimostrata una correlazione tra il grado di attenuazione del tessuto adiposo peri-vascolare coronarico (PCAT) con la presenza di segni di infiammazione peri-vascolare localizzata e all'incrementare del PCAT è stata osservata una riduzione del diametro degli adipociti [15]. All'incrementare del grado di attenuazione del tessuto adiposo peri-vascolare dell'aorta ascendente aumenta anche la quantità di fibrosi nello spessore parietale del vaso, questi dati sono stati ricavati da campioni tissutali di parete di aorte ascendenti aneurismatiche sottoposte ad intervento chirurgico, in considerazione del lungo intervallo temporale necessario per la formazione dell'ectasia aortica è ragionevole ritenere che l'incremento fibrosi parietale sia la coda terminale dell'infiammazione aortica localizzata [13].

Il PCAT alla TC coronarica fornisce una misura quantitativa convalidata dell'infiammazione coronarica, utile per stimare in termini prognostici il rischio di mortalità per causa cardiaca e di

mortalità per tutte le cause in modo incrementale rispetto ad altre variabili cardio-radiologiche note quali:

- I) stenosi coronarica significativa, ovvero $> 50\%$ (Figura 1A);
- II) placca aterosclerotica con rimodellamento positivo (Figura 1B);
- III) presenza all'interno della placca aterosclerotica coronarica di "spotty calcification" (Figura 1C);
- IV) placca aterosclerotica coronarica a bassa attenuazione (Figura 1D);
- V) segno del "napkin-ring" (Figura 1E) [16].

Figura 1. Variabili prognostiche morfologiche alla tomografia computerizzata coronarica.



HU, Unità Hounsfield.

Lo scopo di questo studio è quello di valutare per la prima volta il ruolo dell'infiammazione coronarica alla tomografia computerizzata ad alta risoluzione (HRCT) del torace nei pazienti ricoverati per COVID-19 e non con riscontro incidentale di COVID-19. Inoltre al fine di valutare il

ruolo prognostico del PCAT in diverse varianti di Sars-CoV2 abbiamo deciso di selezionare pazienti che si sono ammalati di COVID-19 in ondate pandemiche differenti.

MATERIALI E METODI

Pazienti e disegno dello studio

Questo studio è stato condotto presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, designata come centro "hub" per la cura dei pazienti affetti da COVID-19 dell'area metropolitana di Parma (circa 450.000 abitanti) fin dalle prime fasi della prima ondata di pandemia.

Sono stati arruolati due gruppi distinti di pazienti ricoverati per COVID-19 nel marzo 2020 e nel marzo 2021, dopo aver verificato i criteri di inclusione ed esclusione. I periodi di osservazione sono stati scelti perché corrispondono rispettivamente ai picchi della prima e della terza ondata della pandemia di COVID-19 in cui erano prevalenti varianti differenti di SARS-CoV-2.

Criteri di inclusione

- Età \geq 18 anni;
- Ricovero urgente per COVID-19 in paziente positivo per SARS-CoV-2 (test molecolare - PCR) su tampone nasofaringeo eseguito al momento del ricovero;
- Esecuzione durante il ricovero di HRCT del torace secondo giudizio clinico;
- Esami di laboratorio eseguiti entro 24 ore dal ricovero.

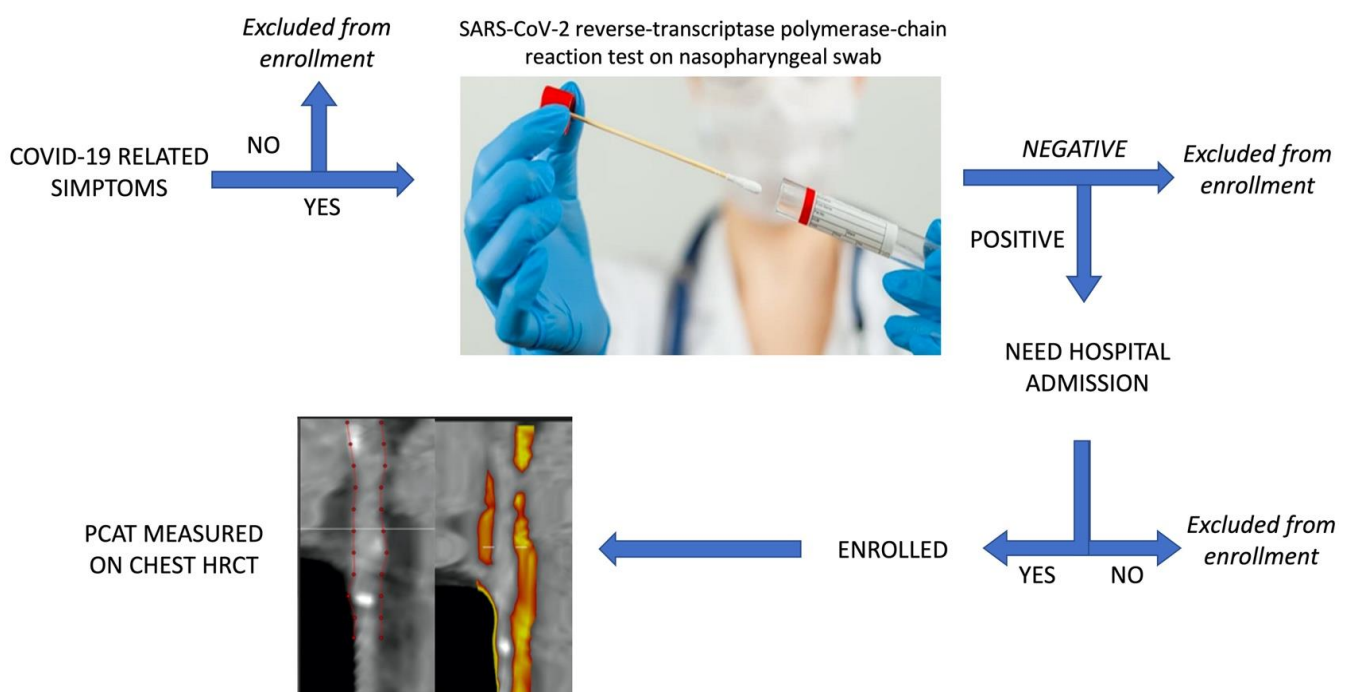
Criteri di esclusione

- Rifiuto di prestare il consenso informato;
- Importanti artefatti alla HRCT torace che non permettono di eseguire l'analisi del PCAT.

Le cartelle cliniche di ciascun paziente arruolato nello studio sono state esaminate per raccogliere i dati demografici, le comorbidità, la presentazione clinica, i parametri vitali, i dati radiologici e i risultati degli esami di laboratorio e l'emogasanalisi arteriosa eseguiti al momento del ricovero.

La pressione parziale dell'ossigeno nel sangue arterioso e il flusso di ossigeno somministrato sono stati utilizzati per calcolare il P/F ratio. Per tutti i partecipanti sono stati raccolti i dati relativi ai trattamenti somministrati durante la degenza e l'esito alla dimissione in termini di sopravvivenza o morte; il disegno dello studio è mostrato in Figura 2.

Figura 2. Arruolamento e disegno dello studio.



Covid-19, COronaVirus Disease 19; PCAT, attenuazione del tessuto adiposo peri-vascolare coronarico; HRCT, tomografia computerizzata ad alta risoluzione del torace.

Tomografia computerizzata ad alta risoluzione (HRCT) del torace

I pazienti sono stati sottoposti a HRCT del torace con uno scanner Somatom Definition Edge a 128 slice (Siemens Medical Solutions, Forchheim, Germania) dotato di un rilevatore a circuito integrato

ad alta risoluzione. Gli esami sono stati eseguiti con i pazienti in posizione supina, durante la fase inspiratoria massimale, senza l'utilizzo di mezzo di contrasto.

I parametri della scansione HRCT sono:

- I) collimazione 128×0,6 mm;
- II) tempo di rotazione 0,33 ms;
- III) passo 1,2;
- IV) tensione del tubo 120 kVp;
- V) potenza del tubo 150 mAs (valore di riferimento);
- VI) scansioni eseguite con modulazione della corrente del tubo attivata.

I dati di scansione sono stati ricostruiti con un nuovo algoritmo di ricostruzione iterativa (ADMIRE) che permette di mantenere il rumore a un livello molto basso preservando i dettagli anatomico-radiologici a basso contrasto intrinseci.

Interpretazione della HRCT toracica

Ogni esame è stato valutato clinicamente utilizzando una classificazione simile a quella indicata dal “Consensus Statement della Radiological Society of North America” [17].

Sono state definiti tre quadri radiologici:

- I) presenza di polmonite interstiziale tipica per COVID-19 caratterizzata dalla presenza di opacità a vetro smerigliato, consolidazioni parenchimali bilaterali multifocali con pattern “patchy” e/o alterazioni interstiziali con distribuzione periferica prevalente;
- II) in caso di assenza delle caratteristiche tipiche e presenza di opacità a vetro smerigliato multifocali, diffuse, peri-ilari o unilaterali con o senza consolidazioni parenchimali il quadro radiologico viene definito come ad aspetto indeterminato;
- III) negativo per polmonite.

Per ogni esame è stata eseguita una stima semi-quantitativa definita “visual score” del parenchima polmonare interessato dalla polmonite interstiziale in termini percentuali in 5 classi di severità crescente:

- I) < 10%;
- II) dal 10 al 19%;
- III) dal 20 al 49%;
- IV) 50 al 79%;
- V) $\geq 80\%$.

Calcium score coronarico o Agatston score

La presenza di calcificazioni nelle placche aterosclerotiche coronariche è stata individuata utilizzando una soglia di 130 unità Hounsfield (HU) in 3 voxel contigui al fine di identificare una lesione aterosclerotica calcifica, con un'area minima della lesione di 1,02 mm². Il calcium score coronarico (CAC) è stato calcolato con il metodo della densità dell'area, ovvero è stata moltiplicata l'area della lesione per un fattore di densità (in HU) derivato dal valore massimo di densità stimato all'interno dell'area della lesione calcifica, secondo quanto descritto da Agatston [18].

Il CAC è stato stimato mediante il software CaScore (Siemens, Germania).

Attenuazione del tessuto adiposo peri-coronarico (PCAT)

Per la stima del PCAT è stato utilizzato il software AutoPlaqueTM Version 2.5 (Cedars-Sinai Medical Center) che è già stato validato clinicamente [19]. Questo è il primo studio in cui le scansioni sottoposte all'analisi sono HRCT e non immagini di TC coronarica; ciò implica l'assenza di mezzo di contrasto e l'assenza di cardio-sincronizzazione ECG-guidata delle scansioni. Nella pratica clinica giornaliera al fine di ottenere immagini di TC coronarica ottimali limitando gli

artefatti da movimento si implementa il tempo di diastole riducendo la frequenza cardiaca e si utilizzano agenti vasodilatatori per favorire la migliore visualizzazione delle arterie coronarie e dei rami secondari; questi accorgimenti non vengono attuati per le scansioni HRCT.

Dato che sono state utilizzate macchine HRCT di ultima generazione, dotate di elevatissima velocità di scansione e dalle quali si ricavano immagini di altissima qualità, è stato possibile visualizzare le arterie coronarie, in particolare l'arteria discendente anteriore (LAD) al fine di eseguire una stima del PCAT attraverso questi passaggi:

1. La LAD è il vaso coronarico che viene visualizzato meglio rispetto alle altre arterie coronarie nella maggior parte dei pazienti, probabilmente a causa dei minori artefatti da movimento. Abbiamo selezionato manualmente il lume della LAD all'ostio, immediatamente dopo la biforcazione del tronco comune;
2. Il software traccia in modo automatico il contorno della LAD;
3. Per limitare gli artefatti, sulla base di quanto è noto in letteratura, abbiamo impostato i parametri di analisi della LAD dall'ostio per una lunghezza di 40 mm [16];
4. Abbiamo provveduto ad ottimizzare manualmente il contorno della LAD
5. Il software ha permesso di ricostruire automaticamente gli strati tridimensionali in direzione radiale dalla parete coronarica esterna. Questi strati di tessuto peri-coronarico con un'estensione periferica uguale al diametro del lume del vaso rappresentano il volume di interesse predefinito.
6. All'interno del volume di interesse predefinito sono stati considerati tessuto adiposo peri-coronarico tutti i voxel con una densità radio-tomografica compresa tra -190 e -30 HU.
7. Abbiamo quantificato il valore di attenuazione media del PCAT sulla base dell'istogramma di attenuazione del grasso peri-coronarico nell'intervallo compreso tra -190 HU e -30 HU [16,19,20]. Questo processo è rappresentato nella Figura 3.

Figura 3. Metodologia e tecnica del calcolo dell'attenuazione del tessuto adiposo peri-coronarico. In alto a sinistra identificazione dell'arteria coronaria discendente anteriore sinistra all'HRCT; in basso a sinistra tracciamento delle pareti del vaso dopo ottimizzazione manuale; a sinistra stima dell'attenuazione del tessuto peri-coronarico con relativo istogramma di attenuazione.

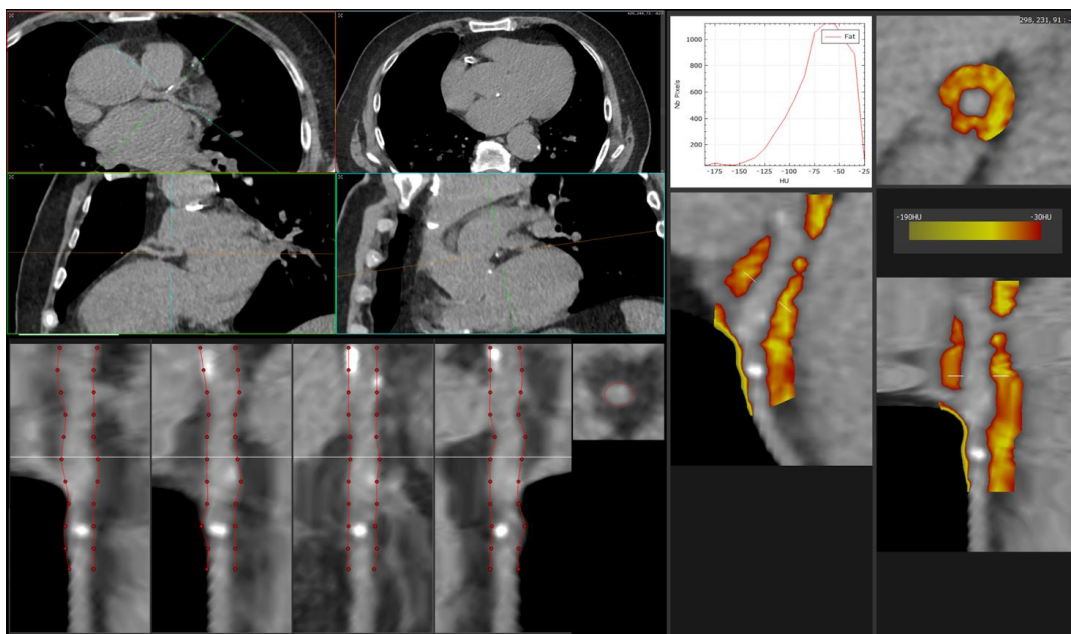
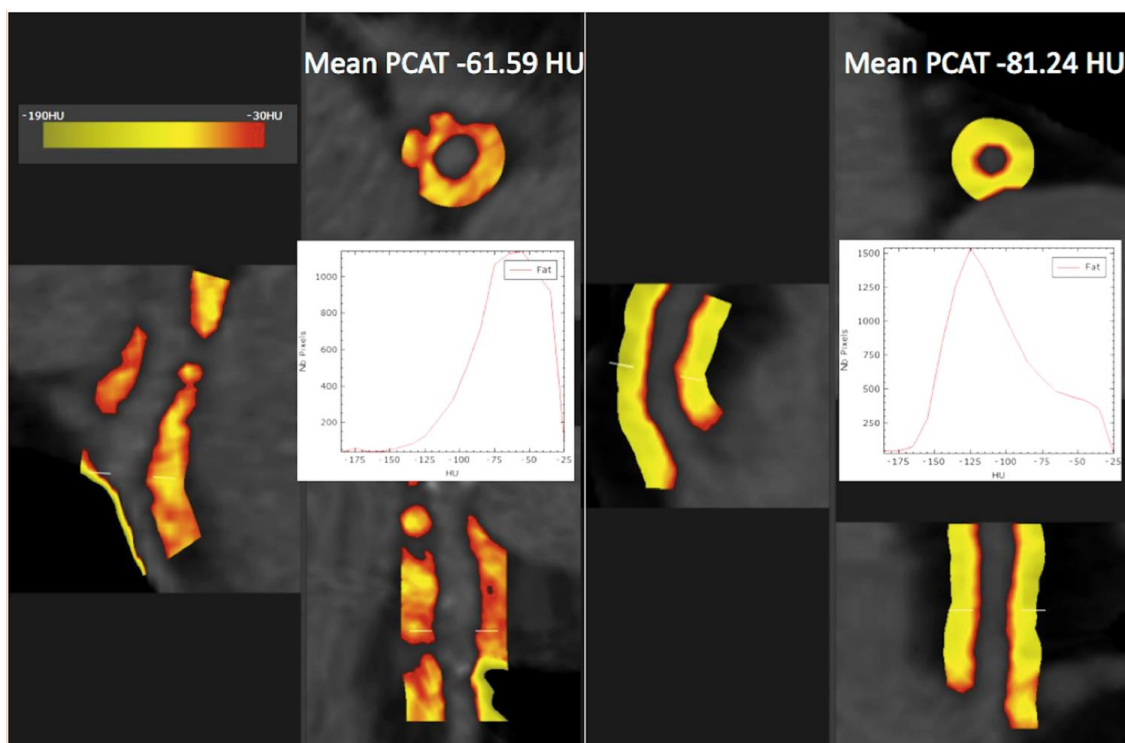


Figura 4. Confronto tra due casi paradigmatici con (a sinistra) e senza (a destra) infiammazione coronarica con relativi istogrammi di attenuazione.

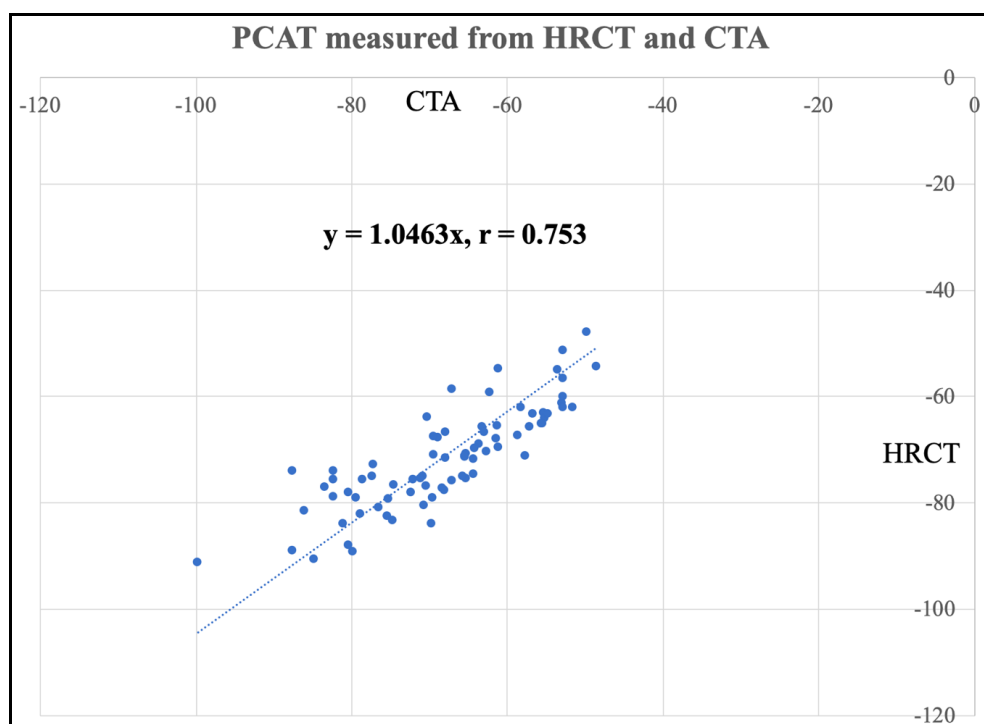


HU, Unità Hounsfield.

Validazione preliminare della misura del PCAT con il protocollo di scansione HRCT rispetto alla TC coronarica

Sono stati identificati retrospettivamente 80 soggetti sottoposti sia a HRCT del torace, utilizzando la stessa macchina usata in questo progetto di ricerca ovvero Somatom Definition Edge a 128 slice (Siemens Medical Solutions, Forchheim, Germania), che a TC coronarica con un lasso temporale tra i due esami inferiore a 6 mesi. Abbiamo eseguito alla regressione lineare semplice e si evince una buona correlazione del PCTA tra i due dataset con $r=0,753$ (95% CI 0,634-0,835), $p<0,001$ ed un coefficiente di correlazione intraclasse di 0.713 (Figura 5). Questo dimostra che la misurazione del PCAT alla HRCT può essere considerata affidabile. Le caratteristiche demografiche della popolazione in analisi sono descritte nella Tabella 1.

Figura 5. Regressione lineare dell'attenuazione perivascolare coronarica eseguite sia alla tomografia computerizzata coronarica che alla tomografia computerizzata ad alta risoluzione del torace nella stessa popolazione di 80 soggetti.



CTA, tomografia computerizzata coronarica; HRCT tomografia computerizzata ad alta risoluzione del torace; PCAT, attenuazione perivascolare coronarica.

Tabella 1. Caratteristiche demografiche degli 80 soggetti in cui è stata stimata l'attenuazione perivascolare coronarica sia alla tomografia computerizzata coronarica che alla tomografia computerizzata ad alta risoluzione del torace con un lasso di tempo tra i due esami inferiore a 6 mesi. Dati espressi come mediana ed intervallo interquartile o media e valore percentuale.

Pazienti selezionati per la validazione preliminare del PCAT (n=80)	
Età, anni	63 [52-71]
Donne, %	35 (44)
Iperensione arteriosa, %	44 (55)
Diabete mellito, %	12 (15)
Obesità (BMI >30), %	7 (9)
Dislipidemia, %	13 (16)
Abitudine tabagica, %	22 (28)
Fibrillazione atriale, %	8 (10)
Sindrome coronarica cronica, %	2 (3)
Calcium score coronarico, AU	43 [0-528]
Attenuazione peri-vascolare coronarica, HU	-71.6 (9.2)

AU, Unità Agatston; BMI, Indice di massa corporea; HU, Unità Hounsfield.

Analisi statistica

Le variabili sono espresse come media e deviazione standard, mediana e intervallo percentile 25%-75% (quartile inferiore e superiore) o come numero e valori percentuali. Abbiamo eseguito un confronto tra le caratteristiche dei due sottogruppi della coorte arruolata (marzo 2020 versus marzo 2021) tramite i test t, Mann-Whitney o chi-quadro, in base ai casi specifici. I fattori associati con la mortalità intraospedaliera all'analisi statistica univariabile sia nella popolazione totale che nei singoli sottogruppi di popolazione sono stati successivamente analizzati con modelli di regressione logistica multivariata "stepwise". Età, sesso, periodo di ricovero, durata dei sintomi, tipo di sintomi, numero di malattie croniche, obesità, diabete, il rapporto P/F all'emogasanalisi arteriosa eseguita all'ingresso, livelli di emoglobina, conta dei neutrofilo e dei linfociti, creatinina sierica, proteina C reattiva (PCR), procalcitonina (PCT), calcium score coronarico, percentuale di parenchima polmonare interessato dalla polmonite interstiziale e PCAT alla HRCT sono stati considerati nell'analisi statistica univariabile e come parametri iniziali nei modelli di analisi logistica multivariabile.

Sono stati considerati valori di $p < 0.05$ come statisticamente significativi.

Le analisi sono state eseguite con il pacchetto statistico MedCalc (versione 19.4, Ostenda, Belgio).

RISULTATI

In questo studio sono stati arruolati rispettivamente 399 pazienti della prima ondata COVID-19 e 370 pazienti della terza ondata, per un totale complessivo di 769 pazienti. Le caratteristiche cliniche e demografiche dei partecipanti e il confronto tra i due sottogruppi sono riportate rispettivamente nella Tabella 2 e nella Tabella 3.

Tabella 2. Variabili cliniche, demografiche, radiologiche ed outcome della popolazione totale arruolata nello studio. Dati espressi come mediana ed intervallo interquartile o media e valore percentuale.

Popolazione totale arruolata (n=769)	
<i>Fattori demografici</i>	
Età, anni	70 [58-78]
Donne, %	308 (40)
Patologie croniche, numero	2 [1-4]
Ipertensione arteriosa, %	435 (57)
Diabete mellito, %	155 (20)
Obesità (BMI >30), %	108 (14)
Dislipidemia, %	154 (20)
Abitudine tabagica, %	111 (14)

Fibrillazione atriale, %	95 (12)
Sindrome coronarica cronica, %	131 (17)
<i>Presentazione clinica</i>	
Durata dei sintomi, giorni	7 [4-9]
Febbre, %	655 (85)
Tosse, %	396 (52)
Dispnea, %	388 (51)
Diarrea, %	87 (11)
P/F ratio, mmHg	257 [189-331]
<i>Esami ematochimici eseguiti al momento del ricovero</i>	
Emoglobina, g/dl	14 [13-15]
Conta piastrinica, 1000/mm ³	192 [150-243]
Neutrofili, %	79 [71-85]
Linfociti, %	14 [9-20]
Creatinina, mg/dl	0.9 [0.7-1.1]
D-dimero, ng/ml	808 [537-1312]
Proteina C reattiva, mg/L	75 [36-134]
Procalcitonina, ng/ml	0.13 [0.06-0.35]

<i>Tomografia computerizzata del torace ad alta risoluzione</i>	
Visual score, %	30 [15-45]
Opacità “ground glass”, %	748 (97)
Consolidamento parenchimale, %	534 (69)
Calcium score coronarico, AU	33 [0-411]
Attenuazione peri-vascolare coronarica, HU	-72 (9.7)
<i>Terapia ed outcome</i>	
Ossigeno-terapia, %	655 (85)
Ventilazione non-invasiva, %	160 (21)
Ventilazione meccanica, %	41 (5)
Accesso in terapia intensiva, %	68 (9)
Mortalità ospedaliera, %	214 (28)

AU, Unità Agatston; BMI, Indice di massa corporea; HU, Unità Hounsfield; P/F, PaO₂/FiO₂.

Tabella 3. Variabili cliniche, demografiche, radiologiche ed outcome dei due sottogruppi della prima ondata, con ricovero in marzo 2020, e della terza ondata, con ricovero in marzo 2021. Dati espressi come mediana ed intervallo interquartile o media e valore percentuale.

	Prima ondata (n=399)	Terza ondata (n=370)	<i>p</i>
<i>Fattori demografici</i>			
Età, anni	72 [61-81]	65 [55-75]	<0.001
Donne, %	160 (40)	148 (40)	0.861
Patologie croniche, numero	2 [1-4]	2 [1-3]	<0.001
Ipertensione arteriosa, %	243 (61)	192 (52)	0.011
Diabete mellito, %	88 (22)	67 (18)	0.139
Obesità (BMI >30), %	52 (13)	56 (15)	0.302
Dislipidemia, %	84 (21)	70 (19)	0.624
Abitudine tabagica, %	67 (17)	44 (12)	0.050
Fibrillazione atriale, %	51 (13)	44 (12)	0.713
Sindrome coronarica cronica, %	94 (24)	37 (10)	< 0.001
<i>Presentazione clinica</i>			
Durata dei sintomi, giorni	7 [4-10]	6 [3-9]	0.192

Febbre, %	355 (89)	300 (81)	0.001
Tosse, %	211 (53)	185 (50)	0.421
Dispnea, %	196 (49)	192 (52)	0.291
Diarrea, %	24 (6)	63 (17)	<0.001
P/F ratio, mmHg	233 [121-326]	288 [237-338]	<0.001
<i>Esami ematochimici eseguiti al momento del ricovero</i>			
Emoglobina, g/dl	14 [13-15]	14 [13-15]	0.449
Conta piastrinica, 1000/mm ³	195 [152-243]	189 [147-244]	0.716
Neutrofili, %	79 [71-86]	79 [70-85]	0.258
Linfociti, %	14 [9-20]	14 [9-21]	0.512
Creatinina, mg/dl	0.9 [0.7-1.2]	0.9 [0.7-1.1]	0.018
D-dimero, ng/ml	922 [600-1376]	709 [436-1258]	<0.001
Proteina C reattiva, mg/L	106 [50-168]	52 [26-96]	<0.001
Procalcitonina, ng/ml	0.17 [0.09-0.50]	0.09 [0.05-0.23]	<0.001
<i>Tomografia computerizzata del torace ad alta risoluzione</i>			
Visual score, %	30 [15-50]	25 [15-40]	0.009
Opacità “ground glass”, %	398 (100)	350 (94)	< 0.001
Consolidamento parenchimale, %	275 (69)	259 (70)	0.849

Calcium score coronarico, AU	51 [0-412]	5 [0-402]	0.557
Attenuazione peri-vascolare coronarica, HU	-71.6 (9.2)	-73 .1 (10.1)	0.029
<i>Terapia ed outcome</i>			
Ossigeno-terapia, %	296 (74)	359 (97)	< 0.001
Ventilazione non-invasiva, %	56 (14)	104 (28)	< 0.001
Ventilazione meccanica, %	22 (6)	19 (5)	0.907
Accesso in terapia intensiva, %	20 (5)	48 (13)	< 0.001
Mortalità ospedaliera, %	144 (36)	70 (19)	< 0.001

AU, Unità Agatston; BMI, Indice di massa corporea; HU, Unità Hounsfield; P/F, PaO₂/FiO₂.

In confronto ai pazienti ricoverati durante la prima ondata, i pazienti della terza ondata erano più giovani e presentavano meno comorbidità quali ipertensione arteriosa sistemica e sindrome coronarica cronica. Vi è una differente distribuzione dei sintomi COVID-19 relati con una maggiore prevalenza di diarrea (17% *versus* 6%, $p < 0.001$) e una minore prevalenza di febbre (81% *versus* 89%, $p = 0.001$) nei pazienti ricoverati in marzo 2021 terza ondata. Il “burden” infiammatorio è maggiore nei pazienti della prima ondata che presentano valori di di D-dimero, PCR e procalcitonina più elevati (rispettivamente: mediana 922, IQR 600-1376 ng/ml *versus* 709, IQR 436-1258 ng/ml $p < 0.001$; mediana 106, IQR 50-168 mg/l *versus* 52 IQR 26-96 mg/l, $p < 0.001$; e mediana 0.17, IQR 0.09-0.50 ng/ml *versus* 0.09, IQR 0.05-0.23 ng/ml, $p < 0.001$). Alla HRCT si evidenzia un interessamento polmonare in termini di estensione inferiore nei pazienti della terza ondata rispetto a quelli della prima (“visual score” HRCT: mediana 25, IQR 15-40, *versus* 30, IQR

15-50%, $p=0.009$) ed un rapporto P/F all'emogasanalisi arteriosa migliore nei pazienti della terza ondata (mediana 288, IQR 237-338 mmHg *versus* 233, IQR 121-326 mmHg, $p<0.001$).

La prevalenza di calcificazioni coronariche è simile tra i due gruppi (mediana 5, IQR 0-402 AU *versus* 51 IQR 0-412 AU, $p=0.557$) ma la stima del PCAT è inferiore nei pazienti della terza ondata (PCAT -73.1 ± 10.1 HU *versus* -71.6 ± 9.2 HU, $p=0.029$). I pazienti ricoverati durante la terza ondata sono stati trattati più frequentemente con ventilazione non invasiva (28% *versus* 14%, $p<0.001$) e nonostante una maggiore percentuale di ricovero in unità di terapia intensiva (13% *versus* 5%, $p<0.001$) la mortalità durante il ricovero è significativamente inferiore (19% *versus* 36%, $p<0.001$).

Nella coorte totale dei pazienti inclusi nello studio diverse variabili sono risultate associate con la mortalità intra-ospedaliera all'analisi statistica univariabile e tra queste anche il CAC e la PCAT all'HRCT del torace (entrambe $p<0.001$) come mostrato in Tabella 4.

Tabella 4. Analisi statistica univariabile eseguita su tutta la coorte inclusa nello studio.

Analisi statistica univariabile		
	OR (95% CI)	<i>p</i>
Età	1.092 (1.075-1.109)	<0.001
Donne	0.902 (0.665-1.224)	<0.001
Patologie croniche	1.498 (1.377-1.630)	<0.001
Ipertensione arteriosa	3.426 (2.454-4.783)	<0.001
Diabete Mellito	2.406 (1.685-3.434)	<0.001

Obesità (BMI >30)	0.994 (0.638-1.549)	0.978
Dislipidemia	1.219 (0.843-1.765)	0.296
Abitudine tabagica	2.374 (1.585-3.557)	<0.001
Fibrillazione atriale	4.166 (2.678-6.481)	<0.001
Sindrome coronarica cronica	3.901 (2.711-5.612)	<0.001
Durata dei sintomi	0.942 (0.908-0.978)	0.001
Febbre	0.713 (0.481-1.056)	0.095
Tosse	0.535 (0.395-0.725)	<0.001
Dispnea	1.697 (1.253-2.299)	<0.001
Diarrea	0.395 (0.226-0.691)	<0.001
P/F ratio	0.994 (0.993-0.996)	<0.001
Emoglobina	0.864 (0.796-0.938)	<0.001
Conta piastrinica	0.998 (0.996-0.999)	0.015
Neutrofilii	1.036 (1.021-1.051)	<0.001
Linfociti	0.961 (0.944-0.979)	<0.001
Creatinina	2.087 (1.589-2.741)	<0.001
D-dimero	1.0002 (1.0001-1.0003)	<0.001
Proteina C reattiva	1.008 (1.006-1.011)	<0.001

Procalcitonina	1.278 (1.109-1.472)	<0.001
Visual score	1.034 (1.026-1.042)	<0.001
Opacità “ground glass”	0.703 (0.311-1.587)	0.402
Consolidamento parenchimale	1.060 (0.766-1.467)	0.724
Calcium score coronarico	1.0004 (1.0002-1.0003)	<0.001
Attenuazione perivascolare coronarica	1.061 (1.043-1.079)	<0.001
Ossigeno-terapia	1.985 (1.233-3.197)	0.005
Ventilazione non-invasiva	2.679 (1.868-3.841)	<0.001
Ventilazione meccanica	3.001 (1.598-5.638)	<0.001
Accesso in terapia intensiva	1.302 (0.732-2.318)	0.374

AU, Unità Agatston; BMI, Indice di massa corporea; HU, Unità Hounsfield; P/F, PaO₂/FiO₂.

All'analisi di regressione logistica multivariabile “stepwise” l'età, il numero di malattie croniche, l'abitudine tabagica, il rapporto P/F, la conta piastrinica, la creatinina sierica, la ventilazione meccanica non invasiva, il visual score polmonare e il PCAT, ma non il calcium score coronarico, alla HRCT toracica sono risultati associati in modo indipendente alla mortalità intra-ospedaliera (Tabella 5).

Tabella 5. Analisi statistica multivariabile stepwise eseguita su tutta la coorte inclusa nello studio.

Analisi statistica multivariabile		
	OR (95% CI)	<i>p</i>
Età	1.113 (1.088-1.138)	<0.001
Patologie croniche	1.204 (1.085-1.338)	<0.001
Abitudine tabagica	2.182 (1.257-3.789)	0.006
P/F ratio	0.997 (0.995-0.999)	0.001
Conta piastrinica	0.996 (0.993-0.999)	0.002
Creatinina	1.437 (1.177-1.754)	<0.001
Visual score	1.026 (1.016-1.037)	<0.001
Attenuazione perivascolare coronarica	1.071 (1.047-1.095)	<0.001
Ventilazione non-invasiva	5.791 (3.334-10.057)	<0.001

P/F, PaO₂/FiO₂.

All'analisi di regressione logistica multivariabile “stepwise” eseguita separatamente per le coorti di pazienti ricoverati durante la prima ondata e durante la terza ondata, come per la popolazione totale il PCAT, ma non il CAC, alla HRCT toracica sono associati in modo indipendente alla mortalità intra-ospedaliera (Tabella 6).

Tabella 6. Analisi statistica multivariabile stepwise eseguita sui due sottogruppi di pazienti ricoverati prima ondata, marzo 2020, e ricoverati nella terza ondata, marzo 2021.

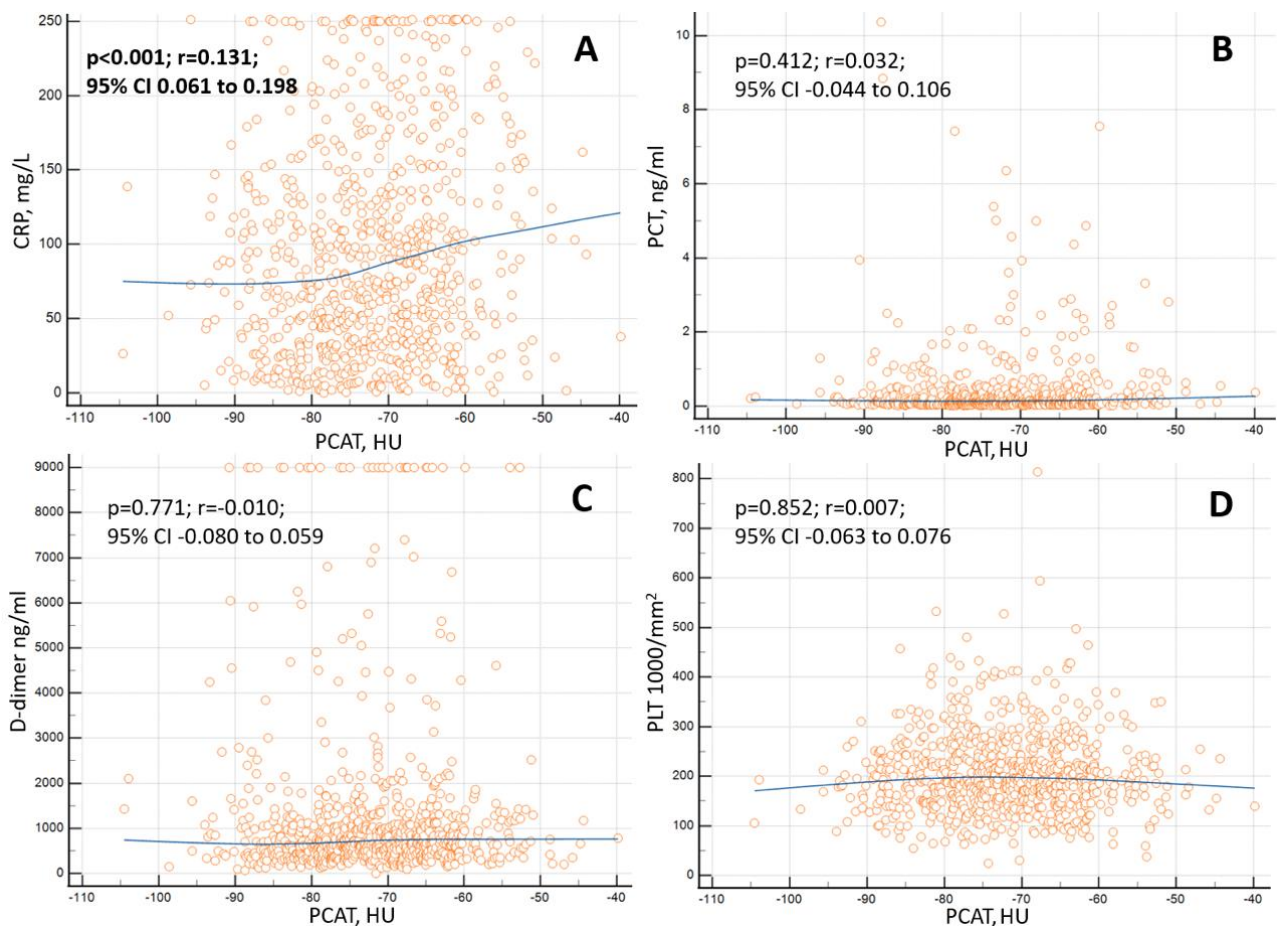
	Prima ondata		Terza ondata	
	OR (95% CI)	<i>P</i>	OR (95% CI)	<i>P</i>
Età	1.104 (1.071–1.372)	<0.001	1.113 (1.078-1.150)	<0.001
Patologie croniche	-	-	-	-
Diabete mellito	2.285 (1.201-4.344)	0.012	-	-
Abitudine tabagica	-	-	3.146 (1.337-7.405)	0.009
P/F ratio	0.993 (0.991-0.996)	<0.001	0.995 (0.991-1.000)	0.028
Conta piastrinica	0.991 (0.987-0.995)	<0.001	-	-
Creatinina	1.424 (1.131-1.792)	0.003	-	-
Visual score	1.021 (1.006-1.036)	0.005	1.028 (1.010-1.045)	0.002
PCAT	1.096 (1.059-1.133)	<0.001	1.052 (1.020-1.086)	0.001
Ventilazione non-invasiva	4.568 (1.848-11.290)	0.001	-	-

P/F, PaO₂/FiO₂; PCAT, attenuazione del tessuto adiposo peri-vascolare coronarico.

Per completezza, nonostante i markers di flogosi esprimano l’infiammazione sistemica e il PCAT sia un surrogato di infiammazione vascolare localizzata, abbiamo ricercato una eventuale correlazione tra il PCAT e PCR, PCT, D-dimero e conta piastrinica trovando una correlazione statisticamente significativa, ma trascurabile, solo con la PCR come mostrato in Figura 6. A

differenza del PCAT nessuno dei markers di infiammazione sistemica risulta associato con la mortalità intra-ricovero all'analisi statistica multivariabile eseguita nell'intera coorte inclusa e nelle sottopopolazioni della prima e della terza ondata.

Figura 6. Correlazione tra il grado di attenuazione peri-vascolare coronarica e rispettivamente: proteina C reattiva (in alto a destra), procalcitonina (in alto a sinistra), D-dimero (in basso a destra) e conta piastrinica (in basso a sinistra).



CRP, proteina C reattiva; PCT, procalcitonina; PLT, conta piastrinica; PCAT, attenuazione peri-vascolare coronarica; HU, Unità Hounsfield.

DISCUSSIONE

Nel presente studio il PCAT, che permette di stimare in modo non invasivo l'infiammazione coronarica localizzata, è associato in modo indipendente alla mortalità intra-ospedaliera sia nella popolazione complessiva sia nelle due coorti separate di pazienti ricoverati durante la prima (marzo 2020) e la terza (marzo 2021) ondata.

Questo è il primo studio in cui l'infiammazione coronarica viene stimata all'HRCT e non alla TC coronarica ed è la prima volta che viene dimostrato un ruolo prognostico del PCAT nei pazienti affetti da SARS-CoV-2 che necessitano di ospedalizzazione.

Il fatto che il PCAT sia associato in modo indipendente con l'outcome anche all'analisi multivariabile condotta separatamente nelle due coorti di pazienti COVID-19 favorisce la solidità della nostra tesi anche in considerazione delle differenze statisticamente significative presenti tra i due sottogruppi come mostrato nella Tabella 3. I pazienti della prima ondata hanno più fattori di rischio cardiovascolari, un maggiore interessamento polmonare, indici di flogosi agli esami ematochimici più elevati e una mortalità intra-ricovero maggiore (36% vs 19%). Si può concludere affermando che i pazienti della prima ondata fossero affetti da una forma di infezione da SARS-CoV-2 più severa determinante una prognosi peggiore.

L'infiammazione coronarica si è dimostrata una variabile affidabile in termini prognostici a prescindere dalle caratteristiche dei pazienti, dalla severità del COVID-19 e dalla variante SARS-CoV-2 responsabile dell'infezione.

Molte variabili prognostiche cliniche e laboratoristiche sono associate in modo indipendente alla mortalità in questo studio, in modo simile ai risultati di altri lavori scientifici, quali: età, numero di malattie croniche, abitudine tabagica, rapporto P/F, conta piastrinica, creatinina e "visual score" polmonare alla HRCT.

Il PCAT è risultato significativamente, ma in modo debole, correlato con la PCR ($r=0.131$, $p<0.001$) ma non con gli altri marcatori di infiammazione sistemica disponibili quali procalcitonina, conta

piastrinica e D-dimero (Figura 6); questo riflette la natura intrinseca del PCAT quale surrogato dell'infiammazione coronarica localizzata e quindi potenzialmente divergente dall'infiammazione sistemica. La "specificità" coronarica di questo parametro può spiegare perché il PCAT fornisce informazioni prognostiche significative, diverse ed indipendenti dai marcatori sistemici di infiammazione e da altre variabili.

Il riscontro di una minore mortalità nei pazienti della terza ondata è apparentemente in contrasto con i dati sperimentali ed epidemiologici che suggeriscono una maggiore virulenza della variante SARS-CoV-2 coinvolta (B.1.1.7) [21-23], responsabile della terza ondata COVID-19 in Italia [5]. La severità del COVID-19 è influenzata in modo significativo dall'età e dalla multimorbilità [11] quindi si può ipotizzare che il coinvolgimento di una popolazione più giovane e con meno comorbilità durante la terza ondata della pandemia di COVID-19 potrebbe aver mascherato la maggiore virulenza della variante B.1.1.7 SARS-CoV-2 [24]; il risultato di questo studio concorda con questa ipotesi anche in considerazione del valore medio di PCAT che risulta inferiore nella coorte dei pazienti ricoverati nel 2021 rispetto ai pazienti ricoverati nel 2020 indicando un'infiammazione coronarica media più bassa.

Limitazioni

Il protocollo HRCT non è il gold-standard per valutare il CAC anche se protocolli TC (senza contrasto e senza ECG) sono già stati validati in precedenza per la stima del CAC [25-27].

La misurazione del PCAT potrebbe potenzialmente differire se viene eseguita alla TC coronarica, ovvero con mezzo di contrasto e cardiosincronizzazione, e alla HRCT, ovvero senza mezzo di contrasto e senza cardiosincronizzazione (come quella utilizzata nello studio attuale) anche se è stata recentemente documentata una buona correlazione nei valori del PCAT stimati in scansioni di TC coronarica con e senza mezzo di contrasto; ma sempre con cardiosincronizzazione ECG-guidata e utilizzando la stessa macchina [28].

Per la prima volta in questo studio è stata eseguita la misurazione del PCAT su un protocollo di scansione HRCT che quindi non presenta sincronizzazione cardiaca; proprio per questo motivo abbiamo condotto uno studio validativo preliminare coinvolgendo 80 pazienti che hanno eseguito sia la TC coronarica che la HRCT con un lasso di tempo inferiore a 6 mesi tra i due esami. Tutti i pazienti arruolati sono stati sottoposti allo stesso protocollo HRCT (standardizzato all'inizio della pandemia) e con la stessa macchina in modo che, indipendentemente dallo specifico valore assoluto di PCAT, il confronto relativo tra pazienti dimessi in vita ed andati incontro a decesso intra-ospedaliero non fosse potenzialmente inficiato da fattori confondenti contestuali a differenze intrinseche al protocollo di scansione.

Il PCAT è stato misurato solo a carico della LAD perchè è l'arteria coronaria meno interessata da artefatti alle scansioni HRCT e quindi meglio visualizzabile. E' noto dalla letteratura scientifica che l'uso del PCAT a carico della LAD ha un documentato valore di stratificazione prognostica, sia in termini di mortalità cardiovascolare che per tutte le cause, allo stesso modo della stima del PCAT a carico dell'arteria coronaria destra (RCA) e differentemente dal PCAT eseguito a carico dell'arteria circonflessa che ha mostrato un valore prognostico solo rispetto alla mortalità per tutte le cause e non riguardo all'outcome cardiaco. Si può quindi concludere affermando che il PCAT può essere stimato in modo equivalente sulla LAD o sulla RCA [16].

CONCLUSIONI

Questo studio dimostra che il PCAT, una misura non invasiva dell'infiammazione coronarica, è associata in modo indipendente alla mortalità intraricovero nei pazienti affetti da COVID-19 che necessitano di ospedalizzazione a prescindere dalla variante SARS-CoV-2 causativa.

Inoltre questo è il primo studio che dimostra che il calcolo del PCAT alla HRCT è affidabile e fattibile con secondarie e future importanti implicazioni nella pratica clinica giornaliera.

BIBLIOGRAFIA

1. Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, Antonelli M, Cabrini L, Castelli A, Cereda D, Coluccello A, Foti G, Fumagalli R, Iotti G, Latronico N, Lorini L, Merler S, Natalini G, Piatti A, Ranieri MV, Scandroglio AM, Storti E, Cecconi M, Pesenti A; COVID-19 Lombardy ICU Network. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*. 2020 Apr 28;323(16):1574-1581. doi: 10.1001/jama.2020.5394. Erratum in: *JAMA*. 2021 May 25;325(20):2120. PMID: 32250385; PMCID: PMC7136855.
2. Ierardi AM, Gaibazzi N, Tuttolomondo D, Fusco S, La Mura V, Peyvandi F, Aliberti S, Blasi F, Cozzi D, Carrafiello G, De Filippo M. Deep vein thrombosis in COVID-19 patients in general wards: prevalence and association with clinical and laboratory variables. *Radiol Med*. 2021 May;126(5):722-728. doi: 10.1007/s11547-020-01312-w. Epub 2021 Jan 19. PMID: 33469817; PMCID: PMC7815188.
3. Frizzelli A, Tuttolomondo D, Aiello M, Majori M, Bertorelli G, Chetta A. What happens to people's lungs when they get coronavirus disease 2019? *Acta Biomed*. 2020 May 11;91(2):146-149. doi: 10.23750/abm.v91i2.9574. PMID: 32420938; PMCID: PMC7569635.
4. Ticinesi A, Nouvenne A, Cerundolo N, Parise A, Prati B, Guerra A, Meschi T. Trends of COVID-19 Admissions in an Italian Hub during the Pandemic Peak: Large Retrospective Study Focused on Older Subjects. *J Clin Med*. 2021 Mar 7;10(5):1115. doi: 10.3390/jcm10051115. PMID: 33800020; PMCID: PMC7962097.
5. Istituto Superiore di Sanità. CS N° 20/2021 - Covid-19: in Italia la 'variante inglese' all'86,7% Il 4,0% dei casi con quella 'brasiliiana'. Comunicato 30 Mar 2021 (Italian Language). https://www.iss.it/web/guest/primo-piano/-/asset_publisher/3f4alMwzN1Z7/content/id/5683229#:~:text=ISS%2C%2030%20marzo%202021%20%2D%20In,sotto%20lo%200%2C5%25.

6. Kyriakopoulos C, Ntritsos G, Gogali A, Milionis H, Evangelou E, Kostikas K. Tocilizumab administration for the treatment of hospitalized patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Respirology*. 2021 Nov;26(11):1027-1040. doi: 10.1111/resp.14152. Epub 2021 Oct 3. PMID: 34605114; PMCID: PMC8661720.
7. Ticinesi A, Tuttolomondo D, Nouvenne A, Parise A, Cerundolo N, Prati B, Zanichelli I, Guerra A, Gaibazzi N, Meschi T. Co-Administration of Remdesivir and Azithromycin May Protect against Intensive Care Unit Admission in COVID-19 Pneumonia Requiring Hospitalization: A Real-Life Observational Study. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Jul 14;11(7):941. doi: 10.3390/antibiotics11070941. PMID: 35884195; PMCID: PMC9311950.
8. Tuttolomondo D, Frizzelli A, Aiello M, Bertorelli G, Majori M, Chetta A. Beyond the lung involvement in COVID-19 patients. *Minerva Med*. 2022 Jun;113(3):558-568. doi: 10.23736/S0026-4806.20.06719-1. Epub 2020 Jun 19. PMID: 32567823.
9. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, Kastelein JJP, Cornel JH, Pais P, Pella D, Genest J, Cifkova R, Lorenzatti A, Forster T, Kobalava Z, Vida-Simiti L, Flather M, Shimokawa H, Ogawa H, Dellborg M, Rossi PRF, Troquay RPT, Libby P, Glynn RJ; CANTOS Trial Group. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017 Sep 21;377(12):1119-1131. doi: 10.1056/NEJMoa1707914. Epub 2017 Aug 27. PMID: 28845751.
10. Tardif JC, Kouz S, Waters DD, Bertrand OF, Diaz R, Maggioni AP, Pinto FJ, Ibrahim R, Gamra H, Kiwan GS, Berry C, López-Sendón J, Ostadal P, Koenig W, Angoulvant D, Grégoire JC, Lavoie MA, Dubé MP, Rhainds D, Provencher M, Blondeau L, Orfanos A, L'Allier PL, Guertin MC, Roubille F. Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2019 Dec 26;381(26):2497-2505. doi: 10.1056/NEJMoa1912388. Epub 2019 Nov 16. PMID: 31733140.

11. Shoar S, Hosseini F, Naderan M, Mehta JL. Meta-analysis of Cardiovascular Events and Related Biomarkers Comparing Survivors Versus Non-survivors in Patients With COVID-19. *Am J Cardiol.* 2020 Nov 15;135:50-61. doi: 10.1016/j.amjcard.2020.08.044. Epub 2020 Sep 8. PMID: 32916148; PMCID: PMC7477637.
12. Dias-Neto M, Meekel JP, van Schaik TG, Hoozemans J, Sousa-Nunes F, Henriques-Coelho T, Lely RJ, Wisselink W, Blankensteijn JD, Yeung KK. High Density of Periaortic Adipose Tissue in Abdominal Aortic Aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2018 Nov;56(5):663-671. doi: 10.1016/j.ejvs.2018.07.008. Epub 2018 Aug 14. PMID: 30115505.
13. Gaibazzi N, Tuttolomondo D, Nicolini F, Tafuni A, Sartorio D, Martini C, Maestri F, Galligani A, De Filippo M, Corradi D. The Histopathological Correlate of Peri-Vascular Adipose Tissue Attenuation on Computed Tomography in Surgical Ascending Aorta Aneurysms: Is This a Measure of Tissue Inflammation? *Diagnostics (Basel).* 2021 Sep 29;11(10):1799. doi: 10.3390/diagnostics11101799. PMID: 34679497; PMCID: PMC8535015.
14. Pasqualetto MC, Tuttolomondo D, Cutruzzola A, Niccoli G, Dey D, Greco A, Martini C, Irace C, Rigo F, Gaibazzi N. Human coronary inflammation by computed tomography: Relationship with coronary microvascular dysfunction. *Int J Cardiol.* 2021 Aug 1;336:8-13. doi: 10.1016/j.ijcard.2021.05.040. Epub 2021 May 28. PMID: 34052238.
15. Antonopoulos AS, Sanna F, Sabharwal N, Thomas S, Oikonomou EK, Herdman L, Margaritis M, Shirodaria C, Kampoli AM, Akoumianakis I, Petrou M, Sayeed R, Krasopoulos G, Psarros C, Ciccone P, Brophy CM, Digby J, Kelion A, Uberoi R, Anthony S, Alexopoulos N, Tousoulis D, Achenbach S, Neubauer S, Channon KM, Antoniadou C. Detecting human coronary inflammation by imaging perivascular fat. *Sci Transl Med.* 2017 Jul 12;9(398):eaa2658. doi: 10.1126/scitranslmed.aal2658. PMID: 28701474.
16. Oikonomou EK, Marwan M, Desai MY, Mancio J, Alashi A, Hutt Centeno E, Thomas S, Herdman L, Kotanidis CP, Thomas KE, Griffin BP, Flamm SD, Antonopoulos AS,

- Shirodaria C, Sabharwal N, Deanfield J, Neubauer S, Hopewell JC, Channon KM, Achenbach S, Antoniades C. Non-invasive detection of coronary inflammation using computed tomography and prediction of residual cardiovascular risk (the CRISP CT study): a post-hoc analysis of prospective outcome data. *Lancet*. 2018 Sep 15;392(10151):929-939. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31114-0. Epub 2018 Aug 28. PMID: 30170852; PMCID: PMC6137540.
17. Simpson S, Kay FU, Abbara S, Bhalla S, Chung JH, Chung M, Henry TS, Kanne JP, Kligerman S, Ko JP, Litt H. Radiological Society of North America Expert Consensus Document on Reporting Chest CT Findings Related to COVID-19: Endorsed by the Society of Thoracic Radiology, the American College of Radiology, and RSNA. *Radiol Cardiothorac Imaging*. 2020 Mar 25;2(2):e200152. doi: 10.1148/ryct.2020200152. PMID: 33778571; PMCID: PMC7233447.
18. Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M Jr, Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol*. 1990 Mar 15;15(4):827-32. doi: 10.1016/0735-1097(90)90282-t. PMID: 2407762.
19. Kwiecinski J, Dey D, Cadet S, Lee SE, Otaki Y, Huynh PT, Doris MK, Eisenberg E, Yun M, Jansen MA, Williams MC, Tamarappoo BK, Friedman JD, Dweck MR, Newby DE, Chang HJ, Slomka PJ, Berman DS. Peri-Coronary Adipose Tissue Density Is Associated With ¹⁸F-Sodium Fluoride Coronary Uptake in Stable Patients With High-Risk Plaques. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2019 Oct;12(10):2000-2010. doi: 10.1016/j.jcmg.2018.11.032. Epub 2019 Feb 13. PMID: 30772226; PMCID: PMC6689460.
20. Gaibazzi N, Martini C, Botti A, Pinazzi A, Bottazzi B, Palumbo AA. Coronary Inflammation by Computed Tomography Pericoronary Fat Attenuation in MINOCA and Tako-Tsubo Syndrome. *J Am Heart Assoc*. 2019 Sep 3;8(17):e013235. doi: 10.1161/JAHA.119.013235. Epub 2019 Aug 29. PMID: 31462127; PMCID: PMC6755824.

21. Fisman DN, Tuite AR. Evaluation of the relative virulence of novel SARS-CoV-2 variants: a retrospective cohort study in Ontario, Canada. *CMAJ*. 2021 Oct 25;193(42):E1619-E1625. doi: 10.1503/cmaj.211248. Epub 2021 Oct 4. PMID: 34610919; PMCID: PMC8562985.
22. Dabrera G, Allen H, Zaidi A, Flannagan J, Twohig K, Thelwall S, Marchant E, Aziz NA, Lamagni T, Myers R, Charlett A, Capelastegui F, Chudasama D, Clare T, Coukan F, Sinnathamby M, Ferguson N, Hopkins S, Chand M, Hope R, Kall M; COG-UK Consortium. Assessment of mortality and hospital admissions associated with confirmed infection with SARS-CoV-2 Alpha variant: a matched cohort and time-to-event analysis, England, October to December 2020. *Euro Surveill*. 2022 May;27(20):2100377. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.20.2100377. PMID: 35593163; PMCID: PMC9121661.
23. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, Jarvis CI, Kucharski AJ, Munday JD, Pearson CAB, Russell TW, Tully DC, Washburne AD, Wenseleers T, Gimma A, Waites W, Wong KLM, van Zandvoort K, Silverman JD; CMMID COVID-19 Working Group; COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium; Diaz-Ordaz K, Keogh R, Eggo RM, Funk S, Jit M, Atkins KE, Edmunds WJ. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science*. 2021 Apr 9;372(6538):eabg3055. doi: 10.1126/science.abg3055. Epub 2021 Mar 3. PMID: 33658326; PMCID: PMC8128288.
24. Ticinesi A, Parise A, Nouvenne A, Cerundolo N, Prati B, Guerra A, Tuttolomondo D, Gaibazzi N, Meschi T. Insights from comparison of the clinical presentation and outcomes of patients hospitalized with COVID-19 in an Italian internal medicine ward during first and third wave. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Feb 1;10:1112728. doi: 10.3389/fmed.2023.1112728. PMID: 36817786; PMCID: PMC9928966.
25. Budoff MJ, Nasir K, Kinney GL, Hokanson JE, Barr RG, Steiner R, Nath H, Lopez-Garcia C, Black-Shinn J, Casaburi R. Coronary artery and thoracic calcium on noncontrast thoracic CT scans: comparison of ungated and gated examinations in patients from the COPD Gene

- cohort. *J Cardiovasc Comput Tomogr*. 2011 Mar-Apr;5(2):113-8. doi: 10.1016/j.jcct.2010.11.002. Epub 2010 Nov 22. PMID: 21167806; PMCID: PMC3075464.
26. Xie X, Zhao Y, de Bock GH, de Jong PA, Mali WP, Oudkerk M, Vliegenthart R. Validation and prognosis of coronary artery calcium scoring in nontriggered thoracic computed tomography: systematic review and meta-analysis. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2013 Jul;6(4):514-21. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.113.000092. Epub 2013 Jun 11. PMID: 23756678.
27. van Velzen SGM, Lessmann N, Velthuis BK, Bank IEM, van den Bongard DHJG, Leiner T, de Jong PA, Veldhuis WB, Correa A, Terry JG, Carr JJ, Viergever MA, Verkooijen HM, Išgum I. Deep Learning for Automatic Calcium Scoring in CT: Validation Using Multiple Cardiac CT and Chest CT Protocols. *Radiology*. 2020 Apr;295(1):66-79. doi: 10.1148/radiol.2020191621. Epub 2020 Feb 11. PMID: 32043947; PMCID: PMC7106943.
28. Almeida S, Pelter M, Shaikh K, Cherukuri L, Birudaraju D, Kim K, Modi J, Shekar C, Sheikh M, Kinninger A, Hill E, Mutchler C, Tabb L, Falk R, Dey D, Gonzalez J, Karlsberg R, Wesbey G, Budoff M. Feasibility of measuring pericoronary fat from precontrast scans: Effect of iodinated contrast on pericoronary fat attenuation. *J Cardiovasc Comput Tomogr*. 2020 Nov-Dec;14(6):490-494. doi: 10.1016/j.jcct.2020.04.004. Epub 2020 Apr 22. PMID: 32576456.