

DOTTORATO DI RICERCA IN
Scienze Cardio-Nefro-Toraciche

Ciclo XXXIII

Settore Concorsuale: 06/E1 - CHIRURGIA CARDIO-TORACO-VASCOLARE

Settore Scientifico Disciplinare: MED/08 - ANATOMIA PATOLOGICA

TITOLO DELLA TESI

La rete multidisciplinare dell'Emilia-Romagna per lo studio e la prevenzione della morte cardiaca improvvisa

Presentata da

Dott.ssa Valentina Agostini

Coordinatore Dottorato

Chiar.mo Prof.

Gaetano Domenico Gargiulo

Supervisore

Prof.ssa

Antonietta D'Errico

Co-Supervisore

Dott.ssa

Ornella Leone

Esame finale anno 2021

ABSTRACT

Introduzione e scopo dello studio

Nel 2018, alcuni professionisti dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Sant'Orsola-Malpighi e dell'Università di Bologna hanno costituito un gruppo multidisciplinare, comprendente anatomo-patologi, medici legali, genetisti e cardiologi, volto a realizzare una rete operativa che consentisse di porre una diagnosi eziologica nei casi di morte cardiaca improvvisa (MCI) e giungesse ad offrire una valutazione clinica, strumentale ed eventualmente genetica ai familiari dei soggetti deceduti.

Scopo dello studio è riportare e valutare il lavoro svolto da tale rete multidisciplinare nei primi due anni di attività.

Materiali e metodi

Il progetto ha previsto l'adesione volontaria da parte di medici ospedalieri e medici legali della regione Emilia-Romagna. Tutti i casi di MCI verificatisi in soggetti di età > 1 anno e ≤ 55 anni indirizzati alla valutazione della rete multidisciplinare sono stati sottoposti ad uno studio anatomo-patologico dettagliato del cuore presso l'Unità di Patologia Cardiovascolare del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi. I casi con sospetta malattia genetica e i casi con cuore strutturalmente normale sono stati avviati ad analisi presso la Genetica Medica del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi. In alcuni casi è stato necessario procedere ad indagini tossicologiche o microbiologiche. Ai familiari dei pazienti deceduti è stato successivamente offerto uno screening cardiologico clinico e strumentale, con indagini di primo e di secondo livello, seguito da un follow-up personalizzato.

Risultati

Nei due anni di attività sono giunti all'attenzione dell'Unità di Patologia Cardiovascolare del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi 50 casi di MCI. Il 62% dei casi è stato inviato da medici legali, il 36% dalle Anatomie Patologiche della Regione e il 2% è stato inviato dalla famiglia del paziente deceduto.

L'età media dei soggetti è risultata pari a 35 ± 13.6 anni (mediana 38). I maschi rappresentano il 70% dei casi, con un'età media al momento del decesso leggermente inferiore a quella delle femmine (33 versus 38.6).

Il 100% dei casi è stato sottoposto ad esame cardio-patologico completo, il 64% dei casi è stato sottoposto ad analisi genetica, il 44% ad indagini tossicologiche e il 4% ad indagini

microbiologiche per la ricerca di agenti infettivi. L'approccio sequenziale alla ricerca delle cause del decesso, ha permesso di raggiungere un elevato grado di certezza diagnostica (diagnosi certe o altamente probabili) nell'85.5% dei casi (n=41) e, in particolare, una diagnosi certa è stata posta in 29 casi (60.5% del totale). In 5 casi non è stato possibile identificare la causa del decesso (10.4%) ma in 3 di questi casi il materiale non era idoneo per analisi genetiche/tossicologiche.

Nella nostra casistica le malattie non ischemiche del miocardio, primarie o acquisite, rappresentano la causa più frequente di MCI (39.9%) Fra queste le miocarditi/malattie infiammatorie del miocardio, sono il 42.3% e, nella maggior parte dei casi, sono rappresentate da forme istologiche aggressive. I casi di cardiopatia/cardiomiopatia dilatativa (21%) hanno interessato soggetti di età più elevata rispetto ai soggetti affetti da altre malattie non ischemiche del miocardio (46 ± 8.2 anni, range 39-55). In 4 casi (21%), tutti di sesso maschile, è stata identificata una cardiomiopatia aritmogena mentre la cardiomiopatia ipertrofica è stata riscontrata in soli 2 casi (10.5%). In un caso si è evidenziata una amiloidosi cardiaca. Le malattie coronariche sono risultate la causa della MCI nel 23.1% dei casi e la patologia dissecativa delle coronarie costituiva una percentuale consistente di questo sottogruppo (20%). I cuori strutturalmente normali rappresentano il 14.5% della nostra casistica, ma è da sottolineare che i casi in cui sono state riscontrate varianti patogene o VUS in geni responsabili per sindromi aritmiche erano per la maggior parte caratterizzati da cuori con alterazioni macroscopiche o istologiche, e non da cuori strutturalmente normali.

Le indagini tossicologiche hanno fornito un importante contributo, in alcuni casi identificando la causa principale del decesso ed in altri rilevando una possibile concausa. In 10 famiglie (28 soggetti), poiché è stata riscontrata una possibile patologia ereditaria cardiaca sul soggetto deceduto, sono state proposte indagini di screening ai parenti di primo grado. In 12 fra questi casi l'analisi genetica ha portato all'individuazione di una variante di sequenza in uno dei geni analizzati.

Conclusioni

La rete multidisciplinare dell'Emilia-Romagna per lo studio e la prevenzione della MCI ha consentito di formulare una diagnosi eziologica certa/altamente probabile in un significativo numero di casi (85.5%), ha contribuito a definire l'epidemiologia e la base genetica di alcune patologie cardiache causa di morte improvvisa ed ha permesso di individuare soggetti a rischio di patologie ereditarie tra i familiari dei pazienti deceduti. Tali

risultati rappresentano un incoraggiamento per creare un percorso sanitario regionale che preveda uno stretto rapporto operativo tra gruppi di riferimento e reti locali e che consenta di costituire un Registro Regionale dei casi di MCI comprensivo di dati autoptici, clinici e genetici.

INDICE

1. Introduzione	pag. 5
2. Scopo dello studio	pag. 16
3. Materiali e metodi	pag. 17
4. Risultati	pag. 23
5. Discussione	pag. 29
6. Conclusioni e prospettive	pag. 41
7. Bibliografia	pag. 44
8. Appendice	pag. 51
9. Iconografia	pag. 65

1. INTRODUZIONE

Definizione della Morte Cardiaca Improvvisa

La Morte Cardiaca Improvvisa (MCI) è un evento fatale inatteso, dovuto a cause cardiache, che interviene entro un'ora dall'insorgenza dei sintomi in un soggetto apparentemente sano o affetto da una malattia cardiaca la cui gravità non era tale da farne prevedere un esito infausto rapido. Rientrano nella definizione di MCI anche i casi di morte cardiaca occorsa senza testimoni in soggetti di cui era noto lo stato di buona salute nelle 24 ore precedenti il decesso (Goldstein S, 1982).

Il termine “improvviso” si riferisce, oltre che ai decessi intervenuti entro le 24 ore dalla comparsa dei primi sintomi, anche ai pazienti resuscitati dopo arresto cardiaco, sopravvissuti a seguito dell'impiego di dispositivi di supporto vitale o deceduti al momento del ricovero in ospedale.

La MCI è inoltre un evento inatteso o inspiegato in quanto accidentale o imprevisto in pazienti comunque in buona salute, nonostante potessero essere affetti da patologie croniche in condizioni di stabilità clinica.

Incidenza globale e regionale della Morte Cardiaca Improvvisa

Sebbene la suddetta definizione di MCI sia ormai diffusamente accettata dalla comunità scientifica internazionale, le stime epidemiologiche risentono ancora di una certa variabilità, dovuta sia all'uso di definizioni più o meno ampie che all'inclusione di popolazioni più eterogenee.

I dati epidemiologici disponibili sulla MCI provengono principalmente da Registri europei e nord-americani, la maggior parte dei quali non prevede l'accertamento *post-mortem* delle cause del decesso, ma si basa sulla esclusiva valutazione clinico-strumentale per attestare la causa cardiaca che ha condotto alla morte. Alcuni registri, poi, includono anche i casi di arresto cardiaco extra-ospedaliero resuscitati grazie alle tecniche di rianimazione cardiovascolare.

I dati riportati in tali registri europei e nord-americani riferiscono un'incidenza annuale di MCI di circa 50-100 casi ogni 100.000 abitanti (Wong CX, 2019). In particolare, lo studio

EuReCa ONE, che comprende i dati epidemiologici provenienti da 27 paesi europei, ha stimato in Europa un'incidenza di 84/100.000 abitanti (Grasner JT 2016); negli Stati Uniti, il *Resuscitation Outcomes Consortium* (ROC), un registro che raccoglie dati di MCI in vari stati americani dal 2005 al 2015, ha stimato una incidenza leggermente più alta, pari a 110.8/100.000 abitanti (Benjamin EJ 2018).

I dati epidemiologici sulla MCI in Australia e Nuova Zelanda provengono dal registro *Aus-Roc Epistry* e dall'*Australian Resuscitation Outcomes Consortium*. Quest'ultimo comprende 19.722 casi di arresti cardiaci extra-ospedalieri occorsi sino al 2015 e riporta un'incidenza pari a 99.4/100.000 abitanti (Beck B, 2018).

In Giappone i casi di MCI sembrano essere sensibilmente meno frequenti rispetto a quanto stimato in Europa, Stati Uniti, Australia e Nuova Zelanda. Va però sottolineato che il Registro nazionale giapponese riporta solo i casi di arresti cardiaci extra-ospedalieri trattati con rianimazione cardio-vascolare, differendo metodologicamente dagli registri sopra menzionati (Kitamura T, 2012).

Anche i dati epidemiologici provenienti da Asia e Africa sono registrati utilizzando metodologie diverse: in tali regioni l'incidenza di MCI sembra comunque essere inferiore a 50/100.000 abitanti (Wong CX, 2019).

In Italia l'incidenza di MCI è stimata intorno a 0.7/1000 abitanti/anno (Autore C, 2010).

Fattori di rischio per Morte Cardiaca Improvvisa

La maggior parte dei casi di MCI si verifica nella popolazione adulta e l'incidenza aumenta con l'aumentare dell'età; tra gli individui di età inferiore a 35 anni l'incidenza più alta si osserva però nella fascia di età 0-5 anni (Chugh SS, 2004).

I dati disponibili dalla letteratura hanno sempre evidenziato una maggior frequenza negli uomini rispetto alle donne, con un rischio stimato da tre a quattro volte più elevato: in alcuni studi recenti, però, tale disparità sembra essere meno evidente (Chugh SS, 2004).

E' noto che i soggetti di origine afro-americana hanno tassi più elevati di MCI rispetto agli individui di discendenza caucasica o ispanica. Alcuni studi multietnici hanno inoltre confermato che l'incidenza di MCI è inferiore nei soggetti di origine asiatica, coerentemente con le stime di popolazione ed i dati epidemiologici sopra discussi (Shah KS, 2014; Zheng ZJ 1998).

I dati riguardanti l'anamnesi familiare mostrano che l'infarto miocardico o l'arresto cardiaco sono fattori di rischio per MCI. Diversi studi hanno dimostrato che queste associazioni

sono indipendenti dall'aggregazione familiare di altri fattori di rischio comuni e sono quindi verosimilmente dovute ad una predisposizione genetica ereditaria (Friedlander Y 1998, Wong CX 2019).

I fattori di rischio clinico comuni coincidono con i fattori di rischio per malattia coronarica: ipertensione, diabete, dislipidemia, fumo di sigaretta e obesità. Tali fattori sono ritenuti predittivi di MCI sia negli uomini che nelle donne (Adabag AS 2010; Albert CM, 2003). L'associazione tra fattori di rischio per malattia coronarica e MCI sembra sussistere anche nella popolazione più giovane: nello studio *Oregon Sudden Death Study*, infatti, il 58% dei soggetti di età compresa tra 5 e 34 anni deceduti per MCI aveva almeno uno di questi fattori di rischio e, in particolare, il 39% di questi soggetti era obeso (Jayaraman R 2018).

Dati recenti suggeriscono che anche altre comorbidità non correlate alla malattia coronarica possono essere associate a un aumentato rischio di MCI: per quanto ancora dibattute, le più frequenti sembrano essere la fibrillazione atriale, le malattie renali croniche, l'apnea ostruttiva del sonno ed alcune malattie psichiatriche, come depressione, ansia e disturbi psicotici (Hayashi M 2015; Wong CX, 2019).

Infine, nonostante l'esercizio fisico intenso possa essere un fattore associato ad alcuni eventi cardiovascolari acuti, la maggior parte degli studi è concorde nel sostenere che una moderata e regolare attività fisica riduce il rischio di MCI (Whang W, 2006).

Morte Cardiaca Improvvisa e malattia coronarica

In Europa e negli Stati Uniti, la metà circa delle morti correlate a malattia coronarica si verificano con la modalità della MCI. Per quanto alcuni studi epidemiologici abbiano valutato un'associazione tra MCI e malattia coronarica nel 70-80% circa dei casi di MCI, è noto che le percentuali variano considerevolmente a seconda dell'età, sesso e origine etnica (Wong CX 2019; Junntyla MJ 2016). La malattia coronarica è una causa comune di MCI anche tra soggetti giovani: nell'*Oregon Sudden Cardiac Death Study*, la malattia coronarica rappresenta il 22% delle cause patologiche del decesso tra i soggetti di età compresa tra i 5 e i 34 anni (Jayaraman R 2018).

Lo spettro dei substrati patologici della malattia coronarica causa di MCI comprende l'ischemia transitoria, le sindromi coronariche acute e le aritmie insorte a seguito di rimodellamento miocardico o del formarsi del tessuto cicatriziale a riparazione di infarti miocardici (Myerburg RJ, 2012). Due terzi dei casi di MCI correlata a malattia coronarica si

verificano, inoltre, come prima manifestazione della patologia o in soggetti a basso rischio, vanificando i tentativi di prevenzione e terapia precoce in tali casi (Myerburg RJ, 2012).

Morte Cardiaca Improvvisa e altre patologie strutturali del miocardio

Si ritiene che, nei Paesi Occidentali, il 15% circa dei casi di MCI sia causato da cardiopatie strutturali non ischemiche (Chugh SS, 2004; Zheng ZJ 2001). Queste comprendono la cardiomiopatia dilatativa, la cardiomiopatia ipertrofica, la displasia aritmogena del ventricolo destro, la sarcoidosi cardiaca, l'amiloidosi e le anomalie cardiache congenite.

Le MCI causate da cardiopatie strutturali non ischemiche sono percentualmente maggiori nelle fasce d'età giovanili, dove tali cardiopatie potrebbero intervenire nel 30-40% dei casi (Hayashi M 2015; Puranik R 2005). In alcuni Paesi Asiatici, dove la malattia coronarica ha un'incidenza inferiore come causa di MCI rispetto ai Paesi Occidentali, le cardiopatie strutturali non ischemiche possono senza dubbio costituire il substrato anatomico responsabile del decesso in un numero maggiore di casi. In Giappone, Ikeda e colleghi hanno stimato tale incidenza pari al 30-35% dei casi totali di MCI (Ikeda T 2007).

Anche in assenza di significative patologie strutturali del miocardio evidenziabili macroscopicamente, l'esame istologico può rivelare la presenza di substrati patologici, spesso di natura infiammatoria, come possibili cause di MCI (linee guida 2017).

Studi recenti hanno riportato anche un'inattesa elevata prevalenza di prolasso della valvola mitrale nei casi di MCI: per quanto ancora dibattuto, l'evento aritmico fatale potrebbe, in questi casi, essere scatenato dalla fibrosi progressivamente prodottasi a seguito dello stiramento indotto dal prolasso valvolare (Basso C 2015; Nalliah CJ 2018).

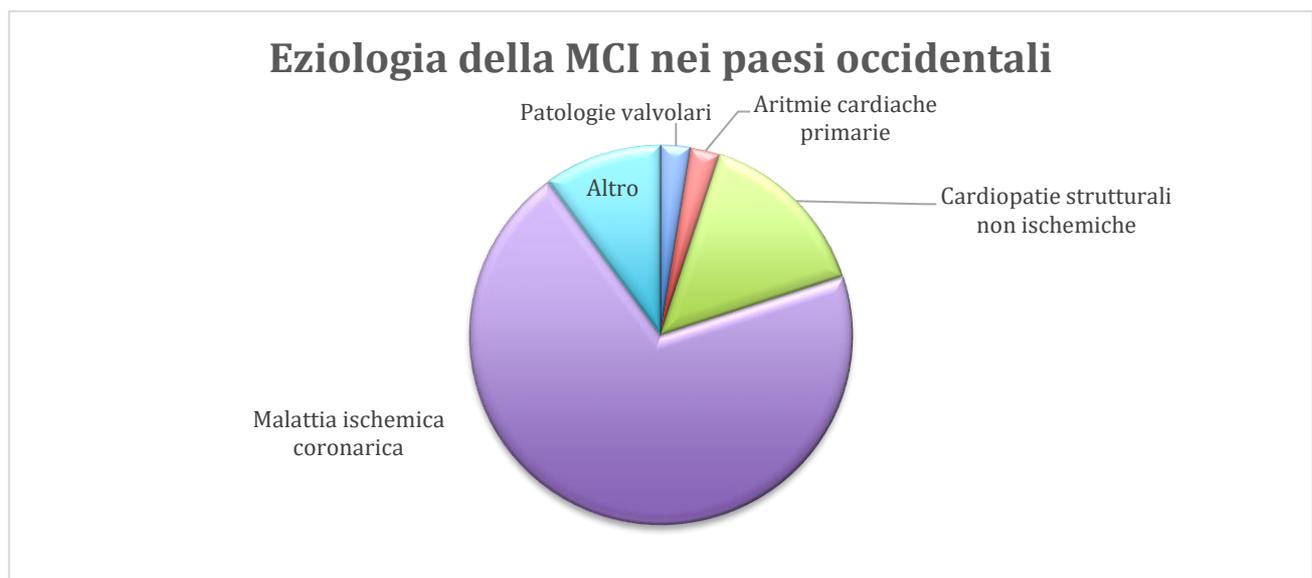
Morte Cardiaca Improvvisa e patologie aritmiche ereditarie

Le principali patologie aritmiche sono causate da una disfunzione su base genetica delle proteine dei canali ionici cardiaci che regolano il funzionamento del sistema di conduzione (c.d. canalopatie). Tali patologie comprendono la sindrome del QT lungo (LQTS), la sindrome del QT breve (SQTS), la sindrome di Brugada e la tachicardia ventricolare polimorfa catecolaminergica (CPVT). Si ritiene che i disturbi aritmici ereditari rappresentino complessivamente l'1-2% circa delle cause di MCI nei Paesi Occidentali (Hayashi M 2015). Alcuni studi hanno tuttavia evidenziato un'importante variabilità delle percentuali a seconda dell'età, della localizzazione geografica e della provenienza etnica dei soggetti.

La prevalenza della sindrome di Brugada, ad esempio, sembra essere maggiore nelle popolazioni Asiatiche (9/1000) rispetto a quelle Europee (3/1000) e Nord-Americane (2/1000) (Quan XQ 2016). La prevalenza della sindrome del QT lungo sembra, invece, simile nelle popolazioni caucasica, giapponese e coreana, risultando pari allo 0,5 circa dei casi ogni 1000 abitanti (Uhm JS 2011; Wong CX 2019) [73-75].

Il Grafico 1 riassume le percentuali dei principali gruppi eziologici nei Paesi Occidentali.

Grafico 1: Eziologia della MCI nei paesi occidentali



La Morte Cardiaca Improvvisa nella popolazione giovanile

Le stime di incidenza della MCI giovanile variano significativamente in base al range di età considerato nella popolazione in studio. La maggior parte delle casistiche fa riferimento ad un'età inferiore a 35 anni nella definizione della MCI giovanile.

Tutte le casistiche di MCI giovanile escludono le morti improvvise/inattese dei bambini di età inferiore ad 1 anno (*Sudden Infant Death Syndrome*), che vedono implicate modalità e cause molto differenti rispetto ai pazienti pediatrici di età superiore ad 1 anno e ai pazienti adulti di età medio-giovane.

Le stime di incidenza più affidabili in casi di MCI nei giovani provengono da studi di popolazione su coorti non selezionate. Fra questi, uno studio svolto in Danimarca (Winkel BG, 2011) e uno in Australia e Nuova Zelanda (Bagnall RD, 2016) condividono numerose similarità nel disegno e nei risultati. Lo studio danese si è avvalso del riesame retrospettivo dei certificati di morte, dei referti autoptici e dei registri sanitari in un periodo di 7 anni: i

risultati hanno evidenziato un tasso di incidenza di 1,9/100.000/anno nei casi sottoposti ad esame *post-mortem*; l'incidenza saliva a 2,8/100.000/ anno quando erano inclusi i casi di MCI diagnosticati sulla sola base clinica senza essere sottoposti ad autopsia. Lo studio condotto in Australia e Nuova Zelanda ha raccolto in modo prospettico, in un periodo di 3 anni, tutti i casi di MCI giovanile esaminati nei principali centri di patologia forense o riportati nei registri di morte; il tasso di incidenza è stato di 1,3/100.000/anno.

In entrambi gli studi, il 70% circa dei pazienti era di sesso maschile e l'incidenza aumentava con il crescere dell'età, con un rischio di MCI quasi 10 volte maggiore nei soggetti tra i 31 e i 35 anni rispetto a quelli di età compresa tra i 6 e i 10 anni.

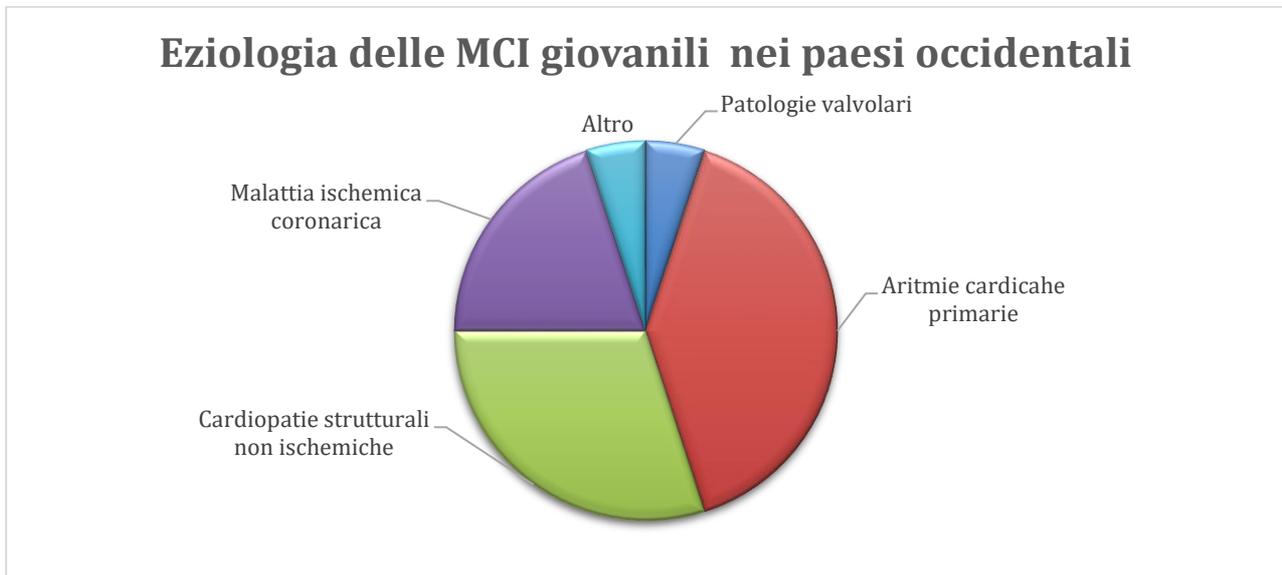
Dagli studi autoptici effettuati negli ultimi decenni su casi di MCI giovanile, è emerso come un reperto frequente sia quello del cuore strutturalmente normale, che giunge a rappresentare fino al 40% dei casi (Bagnall RD 2020, Bagnall RD 2016, Winkel BG 2011). In tali casi, i decessi vengono solitamente attribuiti ad aritmie cardiache primarie, la maggior parte delle quali ascrivibili alle patologie aritmiche su base genetica sopra menzionate: queste, infatti, non si esprimono con significative alterazioni patologiche macroscopiche e microscopiche che possano essere identificate nel corso dell'indagine autoptica (cd. morti aritmiche *sine materia*). Altre cause di MCI improvvisa giovanile di frequente riscontro sono le cardiomiopatie, le miocarditi e altre patologie cardiache strutturali che, come sopra menzionato, potrebbero rappresentare circa il 30-40% dei casi. La malattia coronarica prematura prevale ovviamente nei casi di MCI che occorrono tra i 31 e i 35 anni, ma va ricordato che è buona regola valutare ed escludere tale patologia anche in età più precoci, soprattutto in certe popolazioni (Bagnall RD 2016, Winkel BG 2011).

In circa la metà dei casi la MCI giovanile si verifica a riposo o durante il sonno (Bagnall RD 2020): i meccanismi che intervengono in questi casi sono poco noti, ma potrebbero essere associati ad un disturbo della regolazione autonoma vagale dell'attività cardiorespiratoria.

La morte durante esercizio o attività fisica è relativamente rara, ma è spesso testimoniata (Holst AG 2010).

Il grafico 2 riporta le eziologie della MCI nella popolazione giovanile dei Paesi Occidentali.

Grafico 2: Eziologia delle MCI giovanili nei paesi occidentali



Casistiche autoptiche di Morte Cardiaca Improvvisa giovanile in Italia.

In una casistica autoptica della Regione Veneto di 273 Pazienti di età compresa fra 1 e 35 anni, le cause più comuni di morte sono costituite da aterosclerosi coronarica (21%), cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro (14%), prolasso della valvola mitrale (12%), patologie coronariche non aterosclerotiche (11%), miocarditi (10%), patologie del sistema di conduzione (9%), cardiomiopatia ipertrofica (7%); nel 6% dei casi la causa della morte rimane inspiegata (Basso C, 2001).

In uno studio condotto nella regione Lazio su 100 casi consecutivi di morti improvvise giovanili (età compresa fra 1 e 40 anni) occorse fra il 2001 e il 2005, l'autopsia ha consentito di identificare nel 30% dei casi una malattia coronarica (per la maggior parte di natura aterosclerotica) e nel 22% dei casi una cardiomiopatia (cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro nel 12% dei casi; cardiomiopatia ipertrofica nel 4%). Miocarditi sono state riscontrate solo nel 2% dei casi e il prolasso della valvola mitrale nel 3%; il cuore è risultato strutturalmente normale all'autopsia nel 20% dei casi (di Gioia CR, 2006).

Ruolo dell'autopsia nella Morte Cardiaca Improvvisa

Il costante e progressivo declino del numero delle autopsie verificatosi negli ultimi decenni ha riguardato anche i casi di MCI, sia in ambito ospedaliero che medico-legale, riducendo di conseguenza le opportunità per identificare i soggetti a rischio, giungere ad una diagnosi definitiva delle patologie cardiache che hanno portato al decesso ed attuare strategie preventive nei familiari di I grado in caso di riscontro di cardiomiopatie genetiche potenzialmente ereditarie. La scarsità di autopsie ha anche influito negativamente sulla possibilità di elaborare un consenso effettivo fra i professionisti sull'uso di protocolli diagnostici standardizzati.

L'autopsia nei casi di sospetta MCI è prima di tutto fondamentale per escludere cause di morte non cardiache: è infatti frequente il riscontro di emorragie cerebrali, trombo-embolie polmonari o di altre patologie ad insorgenza improvvisa e inattesa con esito fatale. L'indagine autoptica è inoltre importante per raccogliere in modo opportuno materiale organico da destinare ad eventuali indagini tossicologiche, microbiologiche e genetiche che si rendessero necessarie.

L'autopsia è in generale un'indagine complessa e, per sua natura, irripetibile: la complessità aumenta nei casi di MCI, soprattutto nei giovani, dove sono necessarie competenze specifiche per individuare le patologie cardiache causa del decesso, spesso non evidenti in modo eclatante, e discriminare e interpretare correttamente alterazioni macroscopiche e microscopiche cardiache che attengono ad uno spettro di variazioni individuali fisiologico o para-fisiologico.

E' quindi importante che l'autopsia venga eseguita da anatomo-patologi esperti in patologia cardiovascolare.

L'indagine autoptica deve essere preceduta, quando possibile, dalla raccolta di informazioni rilevanti fornite dai membri della famiglia, dal personale medico e dai testimoni della morte. Di fondamentale importanza sono anche i dati anamnestici personali e familiari, la conoscenza delle circostanze della morte e dell'eventuale sintomatologia occorsa prima del decesso.

Nel 2017 sono state aggiornate le linee guida della *Association for European Cardiovascular Pathology* (AECVP) per l'indagine autoptica nei casi di morte cardiaca improvvisa. Tale documento rappresenta un importante vademecum per l'appropriata esecuzione dell'autopsia, a partire dalla procedura del riscontro fino alle indicazioni utili per l'esame esterno, la corretta gestione del cuore (sezionamento, esame macroscopico, adeguato campionamento per l'esame istologico, valutazione dei reperti microscopici,

eventuale ricorso a indagini istochimiche e immunoistochimiche) e la raccolta dei prelievi per ulteriori indagini (Basso C, 2017).

Fornisce inoltre indicazioni aggiornate sul grado di certezza con cui i substrati patologici cardiaci riscontrati abbiano potuto concorrere al decesso (Figura 2, Appendice) e sulla interpretazione delle aree grigie al confine fra “normalità” e reperti patologici. Il documento contiene, inoltre, suggerimenti sulla formulazione della diagnosi conclusiva e l’epicrisi clinico-patologica e sulle indicazioni allo screening genetico dei familiari sulla base dei reperti autoptici.

Utili linee guida sono anche quelle elaborate in documenti e protocolli disponibili in Canada, Stati Uniti e Regno Unito (Sheppard M, 2015).

Analisi genetica nei casi di Morte Cardiaca Improvvisa

Poiché alcune patologie cardiache causa di MCI hanno una base ereditaria, l’analisi genetica dei campioni prelevati durante l’autopsia può fornire importanti informazioni diagnostiche, sia in termini di conferma nei casi di patologie cardiache strutturali individuate all’esame anatomico-patologico, che di individuazione eziologica nelle aritmie cardiache primarie.

I primi studi che hanno valutato il ruolo dei test genetici *post-mortem* utilizzavano il sequenziamento del DNA con tecnica Sanger, che indaga solo un segmento di DNA alla volta. Oggi, è invece possibile analizzare anche interi pannelli di geni in parallelo, selezionati in base al sospetto diagnostico. In contesti ancora sperimentali, ci si avvale dello studio dell’esoma, che prevede il sequenziamento simultaneo dei 22.000 geni codificanti proteine.

Nei primi studi genetici eseguiti su casi con cuore strutturalmente normale, la resa diagnostica era riportata pari al 30%, percentuale verosimilmente sovrastimata, in quanto le coorti studiate presentavano frequenti bias di selezione o i criteri per definire le varianti patogene erano stati eccessivamente indulgenti.

Determinare se una variante genica sia la reale causa della patologia sospetta è infatti un procedimento diagnostico estremamente complesso. In passato l’assenza di una variante genica in poche centinaia di campioni di controllo nella popolazione era considerata sufficiente per definirla “patogena”. Tuttavia, la raccolta intervenuta successivamente di varianti geniche su diverse migliaia di controlli di popolazione ha rivelato che alcune varianti, seppure complessivamente rare, sono più comuni di quanto atteso. Molti geni

associati a malattie cardiache hanno un livello sorprendentemente elevato di varianti rare nella popolazione generale e la classificazione di patogenicità deve necessariamente prendere in considerazione questo "rumore di fondo" genetico. A oggi, l'esistenza di linee guida rigorose per la determinazione della patogenicità delle varianti e l'analisi di coorti non selezionate hanno modificato i dati sulla resa diagnostica dei test genetici *post-mortem* nei casi di MCI con cuore strutturalmente normale, che verosimilmente si assesta attorno al 10-15% (Bagnall RD 2016, Marcondes L 2018, Winkel BG 2012).

Sebbene sia preferibile estrarre il DNA dai campioni di sangue del paziente deceduto, quando questo non è disponibile, si può ricorrere anche a tessuti inclusi in paraffina utilizzati per lo studio istologico, per quanto la resa diagnostica di tale materiale sia ancora oggetto di studi.

Valutazione clinica dei familiari dei soggetti deceduti per Morte Cardiaca Improvvisa

La valutazione clinica delle famiglie in cui si è verificato un caso di MCI è di fondamentale importanza, vista la significativa possibilità di una sottostante causa genetica potenzialmente ereditaria. L'individuazione di un disturbo cardiaco aritmico o di una patologia strutturale genetica come causa della morte dovrebbe portare ad eseguire uno screening clinico dei membri di primo grado della famiglia, con lo scopo di attuare le appropriate strategie di intervento. Lo screening clinico dovrebbe comprendere la raccolta di una storia familiare dettagliata, mirata all'individuazione di tutte le tipologie di malattie cardiache e alla presenza di casi di morte improvvisa, e le opportune valutazioni clinico-strumentali per individuare eventuali fenotipi positivi sulla base della patologia riscontrata all'autopsia nel soggetto deceduto. Tali valutazioni possono includere elettrocardiografia, ecocardiografia, elettrocardiografia con monitor Holter, test da sforzo e test di provocazione farmacologica.

Se nel deceduto viene riscontrata una variante genica patogena o probabilmente patogena, è raccomandabile il test genetico a cascata nei membri della famiglia di primo grado. Va tenuto infatti in considerazione che i membri della famiglia che potrebbero essere portatori della stessa anomalia genica potrebbero non mostrare sintomi o evidenze strumentali di malattia per una possibile penetranza incompleta o espressività variabile. I parenti portatori asintomatici dovrebbero inoltre proseguire un regolare follow-up cardiologico, per rilevare possibili manifestazioni tardive della patologia cardiaca.

Percorsi e *network* per lo studio della Morte Cardiaca Improvvisa

Per quanto l'interesse scientifico sulle tematiche della MCI sia elevato e siano disponibili linee-guida o documenti di consenso di Società Scientifiche, nel panorama internazionale ed italiano non esistono ancora pratiche o protocolli condivisi in ambiti locali definiti o reti diagnostiche multidisciplinari organizzate.

Sebbene non siano disponibili risultati pubblicati su riviste scientifiche, un'esperienza sperimentale in tal senso era stata avviata nel 2008 in Canada dove, in collaborazione con l'ufficio del Capo coroner dell'Ontario, i casi di morte cardiaca improvvisa venivano centralizzati con un percorso standardizzato presso *l'Heart Institute* dell'Università di Ottawa con lo scopo di indagare la MCI inspiegata giovanile e preservare il materiale per studi genetici preventivi per i familiari a rischio per la stessa condizione.

Per il resto, le reti esistenti sono costituite da Registri, quali il Registro americano della "*Sudden Death in the Young*" dell'istituto Nazionale di Sanità e il Centro Statunitense per il controllo e la prevenzione delle malattie, che contempla l'integrazione multidisciplinare tra esperti e la possibilità di collaborare con l'Associazione nazionale dei "*Medical Examiner*".

Analoga iniziativa è stata portata avanti dal Network di Patologi cardiovascolari del Regno Unito che, in collaborazione con il Centro per l'Informazione sull'assistenza sanitaria e sociale di tale Paese, ha fin dal 2008 organizzato un audit per le morti cardiache improvvise in Inghilterra e nel Galles, riportando importanti dati epidemiologici, patologici e relativi alle cause di morte.

Esempi di Registri realizzati in Italia sono quello del Veneto, il Registro Regionale per la Patologia Cardio-Cerebro-Vascolare, istituito nel 1999 su iniziativa del Servizio di Cardiopatologia dell'Azienda Ospedaliera di Padova che, oltre alle patologie cardiovascolari, comprende anche gli eventi vascolari cerebrali. Il Centro si propone come riferimento per lo studio anatomo-patologico delle malattie cardiache causa di morte improvvisa ed ha, fra i suoi obiettivi, il controllo della mortalità cardiovascolare giovanile.

In Toscana è attivo da pochi anni il progetto "*ToRSADE-Tuscany Registry of Sudden Cardiac Death*" (<http://www.torsade.it>) che prevede la creazione di un registro (database "*ToRSADE*") gestito centralmente dall'Università di Firenze per il monitoraggio delle morti improvvise giovanili. All'obiettivo di monitorare e prevenire le morti cardiache improvvise giovanili in Toscana, si aggiunge quello di ovviare all'incompleta omogeneità di archiviazione dei dati relativi agli atleti ritenuti non idonei dopo la prima visita sportiva

2. SCOPO DELLO STUDIO

Nella regione Emilia-Romagna mancano reti operative multidisciplinari strutturate in modo stabile, che siano finalizzate alla gestione, diagnosi e attuazione di strategie preventive nella morte improvvisa giovanile da cause cardiache o cardiovascolari. In particolare, sono carenti reti che operino in ambito istituzionale con l'obiettivo di predisporre collegamenti fra i vari professionisti che intervengono nella diagnosi dei casi di MCI e un raccordo operativo fra la fase diagnostica e l'ambito clinico. Non esistendo archivi condivisi, è anche molto difficile stimare il numero stesso dei casi sottoposti a indagine autoptica.

Per tali ragioni, nel 2018, un gruppo di professionisti dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Sant'Orsola-Malpighi e dell'Università di Bologna ha preso l'iniziativa di costituire un gruppo multidisciplinare, comprendente anatomo-patologi, medici legali, genetisti e cardiologi, volto a realizzare una rete operativa che, dalla diagnosi specifica delle patologie cardiache causa della morte improvvisa, giungesse a offrire una dettagliata valutazione clinica e strumentale, ed eventualmente genetica, per la prevenzione familiare.

Il progetto è stato discusso l'11 Maggio 2018 a Palazzo Pepoli (Bologna), in un Workshop "Diagnosi e prevenzione della morte improvvisa giovanile in Emilia Romagna: dalla Anatomia Patologica e dalla Medicina Legale fino allo screening delle famiglie", che ha visto una larga partecipazione di anatomo-patologi, medici legali e clinici della Regione, unitamente a rappresentanti di varie Istituzioni coinvolte nella problematica (Assessorato Regionale alle Politiche per la Salute, Autorità Giudiziaria, Università di Bologna, Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, Azienda USL di Bologna).

A seguito di tale evento si è andata man mano sviluppando una rete regionale operativa.

Scopo dello studio è riportare e valutare il lavoro svolto da tale rete nei primi due anni di attività.

3. MATERIALI E METODI

La Rete multidisciplinare per lo studio e la prevenzione della MCI riunisce stabilmente un nucleo di anatomo-patologi, medici legali, cardiologi e genetisti con consolidata esperienza nella diagnosi e la gestione di casi di MCI e tutti i professionisti sanitari motivati a condividere un protocollo operativo standardizzato.

In tutti i casi di MCI sottoposti ad autopsia completa viene eseguito uno studio anatomo-patologico dettagliato del cuore presso l'Unità di Patologia Cardiovascolare del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi da patologi con specifica formazione in campo cardiovascolare.

I casi con sospetta malattia genetica, potenzialmente ereditaria, vengono avviati all'analisi genetica presso la Genetica Medica del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi.

Ai familiari dei pazienti deceduti viene successivamente offerto uno screening cardiologico clinico e strumentale, con indagini di primo e di secondo livello, seguito da un follow-up personalizzato.

Il Protocollo di Intesa prevede vari livelli di accesso sia per quanto attiene la diagnosi patologica che lo screening clinico-strumentale dei familiari.

Un primo livello include l'invio del cuore all'Unità di Patologia Cardiovascolare del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi da parte dei Centri aderenti e la successiva consultazione sulla diagnosi patologica conclusiva e la necessità/opportunità di svolgere ulteriori indagini diagnostiche.

Nei casi in cui l'esame anatomo-patologico del cuore sia stato condotto autonomamente, è possibile accedere condividendo la documentazione fotografica dell'esame patologico macroscopico dell'organo e i preparati allestiti per l'esame istologico e valutando congiuntamente la diagnosi patologica finale e la necessità/opportunità di avviare ulteriori indagini diagnostiche.

In entrambe le evenienze è possibile accedere all'analisi genetica presso la Genetica Medica del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi.

A seguito di diagnosi di una patologia cardiaca genetica, lo screening clinico e strumentale dei familiari di I grado e il follow-up dei parenti eventualmente affetti o a rischio può essere

condotta, a giudizio del Centro in cui si è verificato il decesso, autonomamente o in collaborazione con la Cardiologia del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi.

Protocollo operativo

Criteria di inclusione

Soggetti di età > 1 anno e ≤ 55 anni che soddisfano la definizione internazionalmente condivisa di morte improvvisa in generale e di morte cardiaca improvvisa nello specifico:

- **Morte improvvisa/inattesa: Evento fatale inatteso, naturale,** che interviene entro un'ora dall'insorgenza dei sintomi in un soggetto apparentemente sano o affetto da una malattia la cui gravità non era tale da farne prevedere un esito infausto rapido e/o le morti occorse senza testimoni in soggetti di cui era noto lo stato di buona salute nelle 24 ore precedenti il decesso.
- Morte cardiaca improvvisa: stessa definizione, ma la morte è dovuta a cause cardiache in un soggetto con malattie cardiache note o non note.

Criteria di esclusione

- Evidenza di causa di morte non cardiaca (diagnosticata clinicamente o nel corso di autopsia effettuata presso un'altra sede)
- Età ≤ 1 anno o > 55 anni
- Casi in cui fattori esterni violenti siano l'unica e ovvia causa del decesso.

Procedure e protocolli

Anatomia-patologica

In tutti i casi deve essere eseguita un'*autopsia completa* al fine di consentire l'esame di tutti gli organi e tessuti, un ampio campionamento per esame istologico e gli adeguati prelievi di fluidi corporei e tessuti per eventuali ulteriori indagini che si rendano necessarie. La metodologia è quella dell'*approccio sequenziale* alla definizione delle cause del decesso:

- esclusione delle cause non cardiache di morte;
- successiva ricerca delle cause cardiache.

Esame del cuore. Il cuore deve essere inviato in toto dopo aver praticato 2-3 tagli trasversali a livello dell'apice senza discontinuare l'organo, entro 24-48 ore se fissato in

formalina ed entro 24 ore se fissato in sottovuoto con il programma P4.

L'esame macroscopico con relativa documentazione fotografica e il campionamento per esame istologico vengono condotti secondo le Linee Guida dell'Associazione Europea per la Patologia Cardiovascolare nelle autopsie di morte improvvisa (Basso C, 2017). L'esame istologico va eseguito in tutti i casi utilizzando i criteri diagnostici e gli standard più aggiornati sulle patologie cardiache.

In particolare:

- le placche coronariche sono state descritte secondo la classificazione morfologica dell'American Heart Association (Stary HC, 1995);
- la valutazione della malattia coronarica aterosclerotica e dell'infarto miocardico secondo le linee guida AECVP (Michaud K, 2020)
- i processi infiammatori sono stati valutati in base ai criteri di Dallas e attenendosi alle Linee guida patologiche sulla morte cardiaca improvvisa (Aretz M, 1987; Basso C, 2017; Leone O, 2019);
- per la valutazione dell'ipertrofia cardiaca patologica sono state seguite le linee guida dell'AECVP (in corso di pubblicazione)
- per la diagnosi di prolasso valvolare mitralico ci si è attenuti alla definizione clinica classica di Framingham: spessore dei lembi valvolari di almeno 5 mm con protrusione nella cavità atriale sinistra > 2 mm (Freed LA, NEJM 1999).

Raccolta di fluidi corporei e tessuti

I campioni di fluidi e tessuti corporei, che dovrebbero essere prelevati il più presto possibile dal momento del decesso, sono da destinare a eventuali indagini genetiche, microbiologiche, tossicologiche e farmacogenetiche sulla base dei reperti patologici riscontrati all'autopsia.

Il campionamento deve essere adeguato, anche se l'entità dello stesso potrà variare a seconda della disponibilità, delle circostanze del decesso, dei dati clinici, dei reperti autoptici e di eventuali aspetti medico-legali.

Schema/diagramma generale per procedere a ulteriori indagini diagnostiche:

(vedi Figura 1, Appendice)

1. Casi in cui le malattie cardiache presentano un substrato morfologico patologico:

- nei casi con causa/e di morte certa/e o altamente probabile/i, si procede all'indagine più appropriata, selezionata sulla base dei reperti patologici, solo

quando necessario per completamento diagnostico;

- nei casi con cause di morte dubbie/possibili, si procede in tutti i casi all'indagine più appropriata, selezionata sulla base dei reperti patologici.

2. *Casi in cui il cuore risulta strutturalmente normale all'esame anomo-patologico:*

Si procederà in ogni caso all'analisi genetica, preceduta o meno dalle analisi tossicologiche sulla base dei dati circostanziali disponibili, per indagare possibili aritmie cardiache geneticamente determinate.

Analisi genetica

L'analisi genetica viene eseguita:

- in tutti i casi di diagnosi patologica certa o altamente probabile di cardiomiopatia su base genetica;
- in tutti i casi di diagnosi patologica dubbia/possibile;
- in tutti i casi con cuore strutturalmente normale.

Quando possibile le analisi genetiche devono essere effettuate su campione di sangue venoso periferico conservato in provetta con EDTA a -80°C (6 mL). Se non è possibile ottenere un campione di sangue venoso periferico si deve procedere con un prelievo di sangue da altre sedi o a prelievi di un frammento di milza o di cuore o a biopsia cutanea. Tali frammenti possono essere inviati a fresco o essere congelati in azoto liquido o a -80°C; in alternativa possono essere conservati in RNA-later (una soluzione che previene la degradazione dell'RNA) a temperatura ambiente. Pur non essendo i tessuti conservati in formalina ed inclusi in paraffina ottimali, possono essere utilizzati in mancanza di altri campioni.

Le analisi genetiche sono state effettuate con tecnica Next Generation Sequencing (NGS) con l'ausilio di pannelli specifici per le patologie cardiache ereditarie (Thermofisher-ion torrent: pannello aritmie cardiache, pannello cardiomiopatie, pannello patologie aortiche). Le mutazioni riscontrate sono state confermate con sequenziamento Sanger.

Analisi tossicologiche

L'esame tossicologico viene eseguito:

- nei casi in cui i reperti patologici siano indicativi di danno miocardico tossico;
- nei casi con cuore strutturalmente normale e analisi genetica negativa;
- nei casi in cui, pur in presenza di una patologia cardiaca individuata, si ponga il sospetto che una sostanza illecita o un farmaco somministrato abbia potuto

contribuire al decesso

I prelievi ottimali per indagini tossicologiche quantitative sono:

- sangue venoso periferico: 10-20 mL
- sangue prelevato dalle cavità cardiache: 25 mL
- urine: 10-20 mL
- bile: tutta/20 mL (quando non disponibile l'urina)
- contenuto gastrico
- umore vitreo: 5-10 mL
- una ciocca di capelli (0.2 gr) o peli pubici (se non disponibili i capelli)
- campioni tissutali (miocardio, fegato, polmone, rene, grasso sottocutaneo, muscolo scheletrico): 25:50 gr

Tutti i campioni devono essere conservati a – 20°C.

Il protocollo di analisi tossicologica prevede un'iniziale ricerca delle sostanze di abuso più diffuse. Tale screening iniziale viene effettuato con tecnica "Ultra performance liquid chromatography - mass spectrometry" (UPLC-MC) e/o con tecnica CEDIA (CEDIA, ILab 650, Werfen) e prevede la ricerca di cannabinoidi, cocaina, anfetamine, oppioidi e metadone.

L'eventuale valutazione con analisi più approfondite o relative ad altre potenziali sostanze di abuso viene presa in considerazione caso per caso. Le analisi di conferma vengono solitamente effettuate con gascromatografia-spettrometria di massa.

Indagini microbiologiche

Nei casi di riscontro di patologie infiammatorie cardiache, in particolare in alcune forme istologiche di miocarditi, può essere eseguita la ricerca microbiologica di un agente patogeno.

Il protocollo da utilizzare viene valutato caso per caso a seconda della patologia e dei tessuti disponibili. I campioni ottimali per indagini microbiologiche sono:

- Sangue venoso periferico in provetta con EDTA (volume minimo di 1 ml). Il campione deve pervenire in laboratorio in tempi brevi.
- Due biopsie miocardiche del diametro di 2-3 mm, ciascuna in provette eppendorf, senza aggiunta di terreno né di soluzione fisiologica, una per la ricerca di virus a DNA e l'altra per i virus a RNA. Le provette devono pervenire al laboratorio, quando possibile, in ghiaccio in tempi brevi o essere conservati in RNA-later a temperatura

ambiente.

Screening clinico

Lo screening cardiologico dei parenti di I grado è raccomandato in tutti i casi con diagnosi di patologia cardiaca geneticamente determinata o supposta tale.

In particolare, lo screening va eseguito:

- nei casi in cui l'autopsia abbia identificato un chiaro fenotipo di una cardiopatia su base genetica (cardiomiopatia ipertrofica, cardiomiopatia aritmogena, cardiomiopatia dilatativa, patologie dell'aorta, etc.) anche in caso di analisi genetica in corso/non eseguita/negativa;
- nei casi con cuore strutturalmente sano preferibilmente a seguito dell'esito dell'analisi genetica (anche se negativo).

Le valutazioni clinico-strumentali da effettuare variano da caso a caso in base alla patologia e alla storia personale e familiare dei soggetti coinvolti e possono includere:

- visita cardiologica con elettrocardiogramma (ECG) ed ecocardiogramma, da integrare a seconda dei casi con ECG Holter, ECG da sforzo, RM cardiaca;
- valutazione aritmologica;
- consulenza genetica in collaborazione con la Genetica Medica del Policlinico Sant'Orsola.

Le procedure e i protocolli da seguire per l'invio del cuore e per la corretta modalità di raccolta dei fluidi e tessuti corporei sono stati presentati e discussi durante il Workshop dell'11 Maggio 2018.

Il 25 Maggio del 2018, è stato anche tenuto un Corso di Formazione residenziale presso l'Ospedale S. Maria della Scaletta di Imola, organizzato in collaborazione dalle Anatomie Patologiche dell'Ospedale di Imola e del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi.

Nel primo anno di attività sono state inviate due Newsletter ai Centri che hanno partecipato al Workshop del 2018 con i risultati preliminari del lavoro svolto e i protocolli da seguire.

Analisi statistica

Lo studio prevede l'analisi descrittiva dei primi 50 casi di MCI raccolti nei due anni di attività della Rete multidisciplinare per lo studio e la prevenzione della morte cardiaca

improvvisa. Lo studio ha carattere esplorativo e le variabili sono state espresse con le usuali tecniche di statistica descrittiva: frequenza assoluta e relativa, media, mediana, range e deviazioni standard.

4. RISULTATI

Dati generali

Nei due anni di attività sono giunti all'attenzione dell'Unità di Patologia Cardiovascolare e Trapiantologica Cardiaca del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi 50 casi di MCI. Il 62% dei casi (n=31) è stato inviato da Medici Legali, il 36% (n=18) dalle Anatomie Patologiche della Regione e il 2% (1 caso) è stato inviato dalla famiglia del paziente deceduto.

I casi di provenienza medico-legale appartengono per la maggior parte (70% dei casi) ad autopsie eseguite su richiesta dell'Autorità Giudiziaria. Dei casi provenienti dalle Anatomie Patologiche, la maggior parte (55.5% dei casi e il 20% della casistica totale) è giunta dalla Banca dei Tessuti Cardiovascolari, nell'ambito del progetto regionale di controllo della sicurezza degli organi e tessuti di donatori multiorgano-multitessuto.

Le città che hanno aderito alla Rete Multidisciplinare per lo studio e la prevenzione della MCI sono state Bologna, Imola, Rimini, Parma, Modena, Reggio Emilia, Ferrara e Ravenna. Un caso ci è stato inviato in consulenza dall'Anatomia Patologica di Pistoia.

L'età media dei soggetti è di 35 ± 13.6 anni (range 1-55, mediana 38). I maschi rappresentano il 70% dei casi (n=35), con un'età media al momento del decesso leggermente inferiore a quella delle femmine (33 anni versus 38.6 anni). L'età mediana è per i maschi è pari a 32 anni, mentre per le femmine è pari a 41 anni.

Nella metà circa dei casi, il decesso si è verificato a domicilio (46%, n=23) mentre nei restanti è avvenuto in ambienti esterni. I decessi in casa sono più frequentemente testimoniati (69.5% dei casi). Il luogo esterno al proprio domicilio nel quale si è verificato il maggior numero di MCI è l'automobile (30.9% dei casi verificatisi in ambienti esterni), seguito dal luogo di lavoro. I decessi avvenuti durante attività sportiva sono stati 5 e in 6 casi la MCI si è verificata sotto sforzo (12% del totale).

Il 56% dei soggetti (n=28) non è stato ricoverato in una struttura ospedaliera ed è stato rinvenuto in condizioni di arresto cardiocircolatorio non rianimabile.

I dati epidemiologici sopra menzionati sono dettagliati in Tabella 1 (Appendice).

Indagini e percorsi diagnostici

In tutti i casi è stata eseguita un'autopsia completa, comprensiva o meno dell'analisi del cervello.

Il cuore è pervenuto intero e correttamente sezionato come indicato nel protocollo in 44 casi (88%); in 3 casi erano disponibili solo parti o frammenti dell'organo; nei rimanenti 3 casi sono stati inviati solo i preparati istologici già allestiti e il report dell'esame macroscopico dell'organo. In questi ultimi casi il campionamento per esame istologico era adeguato solo in due.

L'esame anatomo-patologico macroscopico ed istologico è stato eseguito quindi in tutti i casi e, come da protocollo, sulla base dei risultati patologici, si è proceduto in casi selezionati alle indagini genetiche, tossicologiche e microbiologiche. In particolare, il 64% dei casi (n=32) è stato sottoposto ad analisi genetica, il 44% (n=22) a indagini tossicologiche e il 4% (n=2) a microbiologiche per la ricerca di agenti infettivi.

L'**analisi genetica** è stata richiesta nel 56.3% dei casi (n=18) per confermare l'eziologia genetica di un quadro anatomo-patologico già pienamente diagnostico di cardiopatia; nel restante 43.7% dei casi, in presenza di cuori strutturalmente normali o con substrati patologici non conclusivi per una eziologia specifica, il test genetico è stato eseguito per individuare possibili aritmie cardiache primarie o giungere ad una diagnosi più circostanziata. Il pannello genetico più frequentemente utilizzato è stato quello misto aritmico-cardiomiopatie (34.5% dei casi, n=11), seguito dal pannello aritmico, che valuta unicamente mutazioni in geni responsabili di aritmie cardiache (31.2% dei casi, n=10).

Il 59.4% delle analisi genetiche è stato eseguito su campione di sangue, mentre nel 37.5% erano disponibili solo campioni inclusi in paraffina per esame istologico, risultati non idonei all'analisi nel 50% dei casi. In totale, il materiale non si è dimostrato idoneo nel 25% dei casi.

Le **indagini tossicologiche** sono state eseguite in 22 soggetti (44%) e nel 68.2% dei casi è risultato negativo.

Le **indagini microbiologiche** sono state effettuate solo su 2 casi (4%), uno dei quali è risultato positivo per il virus dell'Influenza B, ceppo Yamagata.

In 10 pazienti (20%), l'esame anatomo-patologico è stato sufficiente per individuare la patologia cardiaca che aveva causato il decesso. Negli altri 40 casi (80%), il risultato dello

studio anatomico-patologico ha posto l'indicazione all'utilizzo di altre indagini per raggiungere diagnosi più circostanziate: il percorso diagnostico più frequentemente utilizzato ha previsto il ricorso all'analisi genetica (40% dei casi, n=20), mentre nei restanti 20 casi sono state eseguite percorsi che includevano in varie combinazioni indagini genetiche, tossicologiche, microbiologiche e clinico/familiari.

La Tabella 2 (Appendice) riassume in dettaglio tutte le indagini ed i percorsi diagnostici utilizzati.

L'approccio sequenziale alla ricerca delle cause del decesso ci ha permesso di raggiungere un elevato grado di certezza diagnostica (diagnosi certe o altamente probabili) nell'85.5% dei casi (n=41) e, in particolare, una diagnosi certa è stata posta in 29 casi (60.5% dei casi totali). In due casi il grado di certezza della diagnosi è stato classificato come incerto (4.1%) e in 5 casi non è stato possibile identificare la causa del decesso (10.4%) (Tabella 3, Appendice)

Nel bilancio complessivo dei percorsi diagnostici applicati, lo studio anatomico-patologico ha dato il maggior contributo al raggiungimento del grado di certezza della causa della MCI (60% dei casi). Va evidenziato come, negli altri casi, un contributo importante al conseguimento della diagnosi finale sia stato fornito in percentuali simili dall'analisi genetica (14.7%) e dalle indagini tossicologiche (9.7%). In un caso particolarmente complesso, è stata necessaria l'integrazione dei dati anatomico-patologici, genetici, tossicologici e clinici.

Cause del decesso

I risultati conclusivi sulle cause del decesso sono relativi a 48 casi; in 2 pazienti il percorso diagnostico è in via di completamento.

Nella nostra casistica le cause più frequenti di MCI sono state le malattie del miocardio (39.9% dei casi, n=19), primarie (cardiomiopatie su base genetica) o acquisite (miocarditi, amiloidosi). Patologie coronariche, per la maggior parte su base aterosclerotica, sono risultate responsabili del decesso in 11 soggetti (23.1% dei casi).

Altre cause sono rappresentate da:

- sindrome di Brugada (3 casi, 6.2%);
- abuso di sostanze o intossicazione acuta da alcool (3 casi, 6.2%)
- dissecazione acuta dell'aorta (2 casi, 4.1%)
- prolasso della valvola mitrale con rottura delle corde tendinee (1 caso, 2%)

- riscontro di anomalia minore coronaria sinistra in piccolo paziente con riscontro di VUS nell'esone 1 del gene KCNQ1 (c.136G>A p.Ala46Thr), implicato nella sindrome del QT lungo (1 caso, 2%)
- annegamento in 1 caso (2%), dopo esclusione di patologie cardiache all'esame anatomico-patologico e di indagini genetiche e tossicologiche negative.

Il cuore è poi risultato strutturalmente normale all'esame anatomico-patologico in 7 casi (14.5%). In questo gruppo, l'analisi genetica è stata eseguita in tutti i casi: in 4 pazienti, il materiale disponibile non è risultato idoneo all'analisi; in 1 caso non è stata riscontrata alcuna mutazione o variante; in 1 caso è stata dimostrata una variante in eterozigosi nell'esone 1 del gene PKP2 (c184C>A - p.Gln62Lys), ritenuta probabilmente benigna in Varsome e di incerto significato in Clinvar; in 1 caso l'analisi genetica è ancora in corso. L'indagine tossicologica è stata eseguita solo in 2 di questi 7 casi, per indisponibilità di materiale adeguato negli altri 5, ed è risultata negativa.

Le malattie del miocardio sono state diagnosticate con maggiore frequenza in soggetti di sesso maschile (68.5%, n=13) e l'età media al momento del decesso era di 32.2 anni (\pm 14.8, mediana 29 anni, range 9-55).

Tra le malattie del miocardio, le patologie infiammatorie sono state riscontrate nel 42.3% dei casi (8 casi): i pazienti avevano un'età media di 28.1 ± 15 e una mediana di 28 anni (range: 9-51). Queste erano rappresentate per la maggior parte (7 casi) da miocarditi, prevalentemente in soggetti maschi, con età media di 28 anni (\pm 15, mediana 28 anni, range 9-51); in 1 caso è stata riscontrata una sarcoidosi con massivo interessamento cardiaco nell'ambito di un coinvolgimento linfonodale mediastinico e polmonare focale. Il tipo istologico delle miocarditi è dettagliato nella Tabella 4.

In 1 caso era presente amiloidosi cardiaca diffusa nell'ambito di un amiloidosi sistemica più verosimilmente AL, non nota prima del decesso.

Le cardiomiopatie più frequentemente riscontrate sono state la cardiomiopatia dilatativa e la cardiomiopatia aritmogena, entrambe responsabili del 21% dei casi. Le cardiomiopatie dilatative erano ugualmente distribuite tra maschi e femmine e l'età media al momento del decesso era di 46 anni (\pm 8.2, mediana 45 anni, range 39-55), più alta che negli altri gruppi di malattie del miocardio e paragonabile a quella riscontrata nelle morti da patologia coronarica. La cardiomiopatia aritmogena era presente solo in soggetti di sesso maschile (100%) e in età più giovanile (media 25.2 anni \pm 15.9, mediana 18.5 anni, range 15-49).

Nella nostra casistica si sono verificati solo due decessi imputabili a cardiomiopatia ipertrofica (10.5% dei casi), entrambi di sesso maschile, con età media di 21 anni.

Patologie aritmiche cardiache primarie in cuore strutturalmente normale sono state ritenute la possibile causa del decesso in 7 soggetti (14.5% dei casi), 4 maschi e 3 femmine, con un'età media di 30.7 anni (± 10 , mediana 27 anni, range 22-49), anche se i percorsi diagnostici non sono stati in grado di dimostrarlo. In questo gruppo, cui appartengono tutti i casi in cui non è stato possibile identificare la causa del decesso, la mancanza di materiale adeguato ha influito sui risultati dell'analisi genetica e sulla possibilità di eseguire in tutti le indagini tossicologiche.

In 3 soggetti si è giunti alla diagnosi di sindrome di Brugada (6.2% dei casi), 2 maschi e 1 femmina con età media di 39 anni (± 12.6 , mediana 44 anni, range 25-49), sulla base dell'integrazione di aspetti anatomo-patologici, risultati dell'analisi genetica e documentazione clinica (disponibilità di esami elettrocardiografici). In uno di tali pazienti, alla patologia aritmica si associava il riscontro di dosi tossiche di cocaina.

Sostanze di abuso sono state riscontrate in altri 3 soggetti in cui la morte si è verificata per intossicazione acuta da morfina, alcool e metadone. Nel caso di intossicazione da morfina, l'esame istologico aveva evidenziato una miocardite tossica, mentre nel caso con elevati livelli ematici di etanolo il ventricolo sinistro e il setto presentavano una ipertrofia moderata con fibrosi.

In due soggetti la causa della morte è stata la dissezione acuta dell'aorta (un maschio e una femmina con età media di 42.5 anni), una di tipo I e una di tipo III.

L'unico caso di patologia valvolare (prolasso della mitrale con rottura delle corde tendinee) ha riguardato un ragazzo di 19 anni.

Il caso di un bambino di 1 anno, deceduto improvvisamente durante il sonno, è risultato particolarmente complesso in quanto è stata riscontrata sia un'origine alta della coronaria sinistra sia una mutazione genetica di incerto significato in un gene coinvolto nella patogenesi della LQTS.

Tutti i dati sopramenzionati sono maggiormente dettagliati in Tabella 4 (Appendice).

E'interessante sottolineare (Tabella 5, Appendice) come nella nostra casistica il 36.2% dei casi di MCI ad eziologia ischemica coronarica si sia verificato tra i 35 e i 45 anni; le malattie del miocardio hanno coinvolto anche soggetti di età ≥ 40 anni nel 21% dei casi; le possibili patologie aritmiche primarie e i casi di sindrome di Brugada si sono verificate nel 20% dei casi in soggetti di età superiore o uguale ai 40 anni.

Analisi genetica

L'analisi genetica, eseguita in 32 soggetti (64%) ed è stata richiesta nel 56.3% dei casi in presenza di un quadro anatomo-patologico già fortemente diagnostico di cardiomiopatia su possibile base genetica, mentre nel 43.7% è stata necessaria per poter conseguire una diagnosi circostanziata della causa del decesso.

Il materiale per l'estrazione del DNA e l'appropriata valutazione genetica è risultato idoneo in 24 casi (75%). Tra questi, solo 2 pazienti sono risultati portatori di mutazioni genetiche causative, confermando in 1 caso la diagnosi di cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro; nel secondo caso, un uomo di 21 anni, il reperto di una mutazione nel gene FLNC si associava ad un quadro istologico di estesa miocardite subacuta con aspetti necrotizzanti, in assenza di reperti patologici di cardiomiopatia dilatativa o aritmogena.

In 10 casi sono state riscontrate delle varianti, nel 50% dei casi di incerto significato (VUS), nel 40% probabilmente patogene e nel 10% probabilmente benigne.

In 8 casi (38% dei soggetti analizzati) non è stata riscontrata alcuna mutazione o variante.

Un caso è stato infine analizzato presso un altro Laboratorio di Genetica, ed è stata identificata una mutazione causativa nel gene della protrombina in un soggetto deceduto per trombosi coronarica e infarto miocardico.

I risultati delle analisi genetiche sono riassunti in Tabella 6 (Appendice).

Screening clinico familiare

In questi due anni di attività la Rete multidisciplinare ha consentito di individuare 10 famiglie da sottoporre a test clinico-strumentali per la diagnosi e la prevenzione di malattie cardiache ereditarie. Sono stati studiati 28 soggetti, familiari dei pazienti deceduti per MCI, e 19 fra questi sono stati sottoposti ad analisi genetica. I familiari fenotipo-positivi sono in totale 4 (14.2%) ma i familiari genotipo-positivi sono 10 (52.6%). In alcuni familiari le analisi sono ancora in corso e 4 casi sono stati inviati a studio dell'esoma. Tutti i soggetti studiati saranno sottoposti ad un regolare follow up cardiaco, definito sulla base della patologia e delle caratteristiche del soggetto.

I dati clinici sono riassunti in Tabella 7 (Appendice)

5. DISCUSSIONE

Nonostante le cifre dei decessi per MCI siano paragonabili a quelle dei decessi per alcune neoplasie e molto più alte di quelle per incidenti stradali, i programmi di Sanità Pubblica rimangono inadeguati anche nei Paesi con sistemi sanitari avanzati. Ciò è probabilmente dovuto all'imprevedibilità dell'evento, che investe comunque un'ampia fascia della popolazione sia per le malattie coinvolte che per i relativi fattori di rischio, per cui è difficile identificare una comunità definita di pazienti come accade per le patologie croniche.

Gli obiettivi del Progetto avviato nel 2018 per la diagnosi, la gestione e la prevenzione della MCI in Emilia-Romagna sono stati:

- istituire un gruppo di lavoro multidisciplinare e una pratica di collaborazione interdisciplinare tra patologi specializzati in patologia cardiovascolare, medici legali, cardiologi e genetisti clinici e molecolari in raccordo con gli Ospedali e i Centri di Medicina Legale dove si è verificato l'episodio di morte improvvisa;
- definire procedure e protocolli standardizzati al fine di incrementare le diagnosi definite della patologia cardiaca che ha causato il decesso e i possibili meccanismi patogenetici aritmogenici;
- ottimizzare il numero di riscontri diagnostici nei casi di morte improvvisa;
- individuare *patologie cardiache genetiche* potenzialmente ereditarie e definire il contributo dell'analisi genetica *post-mortem* (cd. autopsia molecolare) al processo diagnostico complessivo;
- individuare nei familiari di I grado del soggetto deceduto forme precliniche delle patologie in questione (*prevenzione primaria*) e, dove possibile, approntare misure terapeutiche, offrendo una dettagliata valutazione clinica e strumentale, eventualmente comprensiva di analisi genetica "a cascata", nei casi in cui i reperti dell'autopsia molecolare abbiano identificato plausibili mutazioni a carico di geni malattia;

- offrire appropriato *follow-up clinico-strumentale* agli eventuali parenti affetti o a rischio della stessa condizione patologica, consentendo una corretta gestione delle famiglie in cui è intervenuto un caso di MCI.

Il raggiungimento di questi obiettivi costituisce la base per:

- delineare lo spettro eziologico delle morti cardiache improvvise/inspiegate in età medio-giovane in Emilia-Romagna (coronaropatia, cardiomiopatie, cardiopatie congenite, malattie infiammatorie del miocardio, aritmie cardiache primarie, influenze da parte di agenti tossici o farmaci) e il meccanismo della morte (aritmico o meccanico);
- giungere a definire un percorso sanitario che preveda un Centro Regionale di Riferimento multidisciplinare per la MCI che operi in stretto rapporto operativo con le reti di raccordo locali;
- costituire un *Registro Regionale* delle Morti Improvvise giovanili comprensivo dei dati autoptici, clinici, molecolari e genetici, destinato ai dipartimenti di Anatomia Patologica, Cardiologia, Genetica e Medicina Legale dei Centri coinvolti.

Adesione al progetto e ambiti di provenienza dei casi

Nonostante l'iniziativa sia stata divulgata con un unico Workshop "Diagnosi della morte improvvisa giovanile in Emilia-Romagna: dalla Anatomia Patologica e dalla Medicina Legale fino allo screening delle famiglie", tenutosi l'11 Maggio 2018 a Palazzo Pepoli (Bologna), l'adesione è stata ampia ed ha riguardato Centri di Medicina Legale e di Anatomia Patologica distribuiti in tutta la regione Emilia-Romagna, a dimostrazione che il progetto andava a colmare un'esigenza esistente.

Il processo diagnostico per la definizione della causa o di cause concomitanti della MCI è infatti complesso e, in mancanza di un gruppo di lavoro multidisciplinare e di una pratica di collaborazione interdisciplinare, spesso ci si rifugia nella generica dizione di "morte cardiaca aritmica".

A causa della modalità del decesso, le MCI si verificano più frequentemente fuori dall'ospedale e le autopsie sono quasi invariabilmente eseguite da patologi forensi, che si attengono alle richieste e indicazioni dei tribunali competenti. Nel 10%-20% dei casi, quando è stato possibile rianimare il paziente dopo l'arresto cardiaco e ricoverarlo in un

ospedale pubblico, è il patologo a eseguire il riscontro diagnostico richiesto dai medici curanti per definire la causa della morte.

Proprio per questi motivi, un dato caratteristico della nostra esperienza è stata l'ampia adesione dei professionisti Medici Legali, dai quali sono pervenuti il 62% dei casi. La collaborazione con la Medicina Legale, che si colloca in un rapporto continuativo stabile e istituzionale fra patologi forensi, cardio-patologi e professionisti clinici, rappresenta la reale novità del Progetto nel panorama, pur carente, delle reti diagnostiche esistenti, ed ha consentito di applicare un processo diagnostico completo a un numero più elevato di casi di MCI rispetto a quello che usualmente è in grado di giungere all'osservazione degli Ospedali pubblici, costituendo un punto di raccolta di dati che precedentemente mancava. Di conseguenza un maggior numero di famiglie è stato raggiunto dalla possibilità di aderire a un programma di screening nei casi di decessi legati a patologie genetiche.

Altro elemento qualificante è rappresentato dal fatto che il 70% dei casi di provenienza medico-legale è parte di autopsie richieste dall'Autorità Giudiziaria che, primariamente mirate a rispondere a quesiti di ordine giudiziario, spesso sfuggivano a indagini approfondite per la definizione dell'eziologia dell'eventuale patologia naturale alla base del decesso. La natura stessa e le circostanze del decesso dei casi medico-legali hanno inoltre influito positivamente nell'ampliare alcune prospettive, valorizzando l'impiego di indagini quali la tossicologia e la farmaco-genetica, usualmente non utilizzate in ambito strettamente ospedaliero da anatomo-patologi e clinici.

Altro aspetto esclusivo e fortemente caratterizzante della nostra esperienza è costituito dal fatto che, fra le autopsie provenienti dall'ambito anatomo-patologico, oltre la metà dei casi (il 20% di quelli totali) proviene dalla Banca Regionale dei tessuti cardiovascolari che, in Emilia-Romagna, ha iniziato le sue attività nel 2002, a seguito della deliberazione della giunta regionale nell'ambito del piano sanitario regionale 1999-2001 "Approvazione di Linee Guida per l'organizzazione delle aree di attività di livello regionale secondo il modello *Hub and Spoke*". La Banca è iscritta nell'elenco della banca dei tessuti del Centro Nazionale Trapianti e opera secondo le norme di certificazione ISO-9001. In questo percorso, strettamente legato ai trapianti di organi, tutti i cuori di donatori cadaveri di valvole cardiache della regione Emilia-Romagna valutati non idonei per il trapianto di cuore vengono inviati, dopo il prelievo delle valvole, all'Unità di Patologia Cardiovascolare e Trapiantologica Cardiaca del Policlinico Sant'Orsola per un dettagliato esame patologico macroscopico ed istologico dell'organo. Se lo scopo principale dell'esame patologico è quello di garantire la sicurezza dell'utilizzazione degli *homograft* valvolari, l'altra non meno

importante finalità è studiare approfonditamente le eventuali patologie native e le possibili patologie occorse durante il ricovero in Terapia Intensiva e dopo il prelievo. Tale prassi, in essere in Emilia-Romagna dal 2003, non è seguita in modo sistematico in altri Centri di trapianto nazionali e internazionali e rappresenta una fonte di indagine diagnostica e scientifica di inestimabile valore.

Una percentuale rilevante dei pazienti donatori va incontro a decesso per morte cardiaca improvvisa: in una recente analisi su 300 cuori di donatori esaminati nell'Anatomia Patologica del Sant'Orsola, tale percentuale assommava all'11.6% (35 casi). Dal 2018 i nuovi casi di MCI pervenuti attraverso il percorso della donazione sono regolarmente inclusi nel protocollo di studio della MCI.

Va enfatizzato che la rete della MCI non è ancora inserita in un percorso istituzionale regionale, per cui l'adesione risente di molte variabili: la motivazione o semplicemente conoscenze aggiornate delle problematiche della MCI da parte di singoli professionisti o dei responsabili dei vari Centri, che possono non valutare così rilevante un fenomeno che incide con bassi numeri nell'ambito del lavoro routinario; la presenza di personale precario o comunque transitorio nelle varie strutture, che pesa sulla continuità dell'invio dei casi.

Popolazione studiata e dati circostanziali

Pur essendo consapevoli del fatto che fissare il limite superiore di età della popolazione di studio a 55 anni avrebbe potuto incidere su un maggior numero di casi affetti da malattia aterosclerotica coronarica, le ragioni principali della scelta sono state quelle di indagare:

- la distribuzione delle patologie del miocardio e delle sindromi cardiache aritmiche primarie anche in pazienti con età superiore a 40 anni (limite massimo usualmente utilizzato nelle casistiche di MCI giovanile)
- la distribuzione della malattia aterosclerotica coronarica misconosciuta in pazienti di età ≤ 45 anni.

I risultati concernenti tali punti saranno discussi nel paragrafo inerente le cause del decesso.

In linea con i dati della letteratura, i pazienti di sesso maschile rappresentano nella nostra casistica la stragrande maggioranza dei casi (70%), con un'età media al momento del decesso leggermente inferiore a quella dei soggetti di sesso femminile (33 anni versus 38.6 anni), ma con una età mediana sensibilmente differenziata (32 anni versus 41 anni) (Bagnall RD, 2020; Winkel BG, 2011).

Per quanto tali dati non possano assumere un pieno valore statistico, poiché l'adesione alla rete è su base volontaria, anche i risultati sulle circostanze del decesso (a riposo: 56%; in condizioni di sforzo: 12%) sono sovrapponibili a quelli riportati in letteratura (Bagnall RD, 2020; Holst AG 2010). Tali dati sono però penalizzati dal fatto che non conosciamo le circostanze in cui si è verificato il decesso in un numero elevato di casi (32%) e ciò è probabilmente dovuto al tipo di casistica non selezionata, che include molti casi di provenienza medico-legale.

Singolare il dato che la maggior parte dei decessi occorsi in ambienti esterni sia avvenuta in automobile (30.9%) o in luoghi di lavoro (27%): per quanto non ci siano in letteratura dati confrontabili a riguardo, si può ipotizzare che in tali situazioni possa intervenire una componente aggiuntiva/scatenante di stress.

Un dato sicuramente preoccupante è il numero elevato dei pazienti (56%) che giungono già deceduti in ospedale.

Percorsi diagnostici

Nonostante le occasioni di discussione siano state limitate e l'adesione al progetto sia su base puramente volontaria, in tutti i casi sono state eseguite autopsie complete e i cuori sono stati inviati secondo il protocollo concordato nella stragrande maggioranza dei casi, permettendo un dettagliato esame macroscopico e un esteso campionamento per l'esame istologico, prerequisiti indispensabili per il conseguimento di una corretta diagnosi.

I percorsi diagnostici attivati in base all'approccio sequenziale sono stati complessi. In particolare, sulla base dei risultati dell'esame patologico e della discussione nel panel di esperti, in 40 casi (80%) si è proceduto ad eseguire altre indagini, nella maggior parte analisi genetica (32 casi) e/o tossicologica (22 casi), per approfondimento/completamento diagnostico nell'ambito di vari contesti:

1. quadri anatomo-patologici già di per sé diagnostici di cardiomiopatia. E' il caso di quadri di cardiomiopatia aritmogena con prevalente interessamento del ventricolo destro o sinistro o di cardiomiopatia ipertrofica da possibile mutazione in proteine del sarcomero;
2. quadri anatomo-patologici con problematiche di diagnosi differenziale, principalmente fra cardiomiopatia dilatativa e aritmogena;
3. casi di cardiomiopatia dilatativa con reperti morfologici aspecifici o casi di dissezione aortica;

4. quadri di ipertrofia ventricolare sinistra e settale in assenza di aspetti istologici pienamente diagnostici di cardiomiopatia ipertrofica da alterazione delle proteine del sarcomero;
5. casi con quadri elettrocardiografici diagnostici di sindrome di Brugada e alterazioni anatomo-patologiche consonanti con tale patologia;
6. casi con cuori strutturalmente normali o con quadri di miocarditi focali;
7. casi con cuori strutturalmente alterati o non alterati, nei quali le circostanze del decesso consigliavano di escludere l'abuso di sostanze tossiche;
8. casi con miocarditi linfocitarie all'esame istologico per la ricerca microbiologica di virus.

In casi di particolare complessità (n. 10) è stato necessario ricorrere a varie indagini per giungere alla diagnosi definitiva o escludere cause concomitanti nel determinismo del decesso.

In soli 10 casi, quindi, ci si è fermati alla sola valutazione anatomo-patologica, quando questa aveva evidenziato patologia coronarica con atero-trombosi o dissecazione o patologie infiammatorie del miocardio molto estese.

Il corretto campionamento dei prelievi in sede autoptica è uno degli aspetti principali nei protocolli diagnostici nei casi di MCI. Nella nostra casistica, il materiale non è risultato idoneo in 8 casi (16%) limitando i risultati soprattutto dell'analisi genetica o la possibilità di eseguire le indagini tossicologiche.

Per le analisi genetiche, sangue o prelievi congelati erano disponibili in 20 casi (62.5% dei casi in cui è stata richiesta tale analisi); negli altri 12, erano disponibili solo prelievi fissati in formalina ed inclusi in paraffina, che sono risultati non idonei nel 50% dei casi.

Azioni di miglioramento riguardo alla condivisione di protocolli di raccolta di fluidi e prelievi corporei da destinare a queste indagini sono sicuramente possibili. In alcuni casi, però, i limiti sono difficilmente superabili perché legati al tipo di casistica, che include casi medico-legali e casi provenienti dal circuito dei donatori d'organo. Nei primi, le procedure di attivazione dell'autopsia da parte dell'Autorità Giudiziaria sono complesse e, di conseguenza, i tempi di esecuzione dell'autopsia piuttosto lunghi: ciò comporta l'intercorrere di lisi post-mortale nei tessuti e nei fluidi, che hanno penalizzato le indagini nel 62.5% dei casi con materiale non idoneo. Nei casi dei donatori multiorgano e multi-tessuto, la procedura di prelievo delle valvole cardiache per la Banca dei tessuti cardiovascolari, comporta che il cuore pervenga in Anatomia Patologica invariabilmente in

formalina, senza che si possa disporre di prelievi di sangue o di tessuti congelati: un accorgimento utile, in questi casi, è eseguire il campionamento per esame istologico entro una settimana di permanenza del campione in formalina (Vitosevic K, 2018).

La possibilità di condividere in via istituzionale un protocollo di raccolta del materiale può comunque sicuramente migliorare i limiti che si sono presentati.

Pur con i limiti descritti, la condivisione dei reperti in una rete multidisciplinare ha consentito di raggiungere un elevato grado di certezza (diagnosi certe o altamente probabili) nel definire la patologia causa del decesso in un numero molto elevato di casi (41, 85.5%).

E' importante ribadire che la relazione causa-effetto fra i reperti autoptici cardiovascolari e l'evento della morte improvvisa si snoda comunque attraverso gradi differenti di certezza diagnostica. Soprattutto nelle categorie delle cause incerte o in quella delle cause probabili, la contestualizzazione clinica, le circostanze del decesso e l'interpretazione multidisciplinare dei risultati delle analisi ancillari hanno un peso rilevante nel processo decisionale.

In soli 5 casi (10.4%) con cuori strutturalmente normali all'esame anatomo-patologico non è stato possibile identificare la causa del decesso e, in tre di questi, il materiale non era idoneo o era subottimale per l'analisi genetica (10.4%) (Tabella 3).

I risultati conseguiti in termini della diagnosi della causa del decesso sono importanti nel ribadire il ruolo centrale dell'autopsia e dell'esame anatomo-patologico nei casi di MCI, soprattutto nei giovani, dove il corretto approccio all'esame dell'organo e le specifiche competenze nelle patologie cardiache che possono causare tali tipi di decessi, sono elementi indispensabili per l'interpretazione finale. Se lo studio anatomo-patologico ha dato il maggior contributo, nell'ambito dei percorsi diagnostici, a individuare la patologia causa del decesso (60% dei casi), contributi rilevanti nei casi di autopsia *sine materia* sono giunti dall'analisi genetica (14.7%) e, dato particolare nella nostra casistica, dalle indagini tossicologiche (9.7%).

Patologie che hanno causato il decesso

Lo spettro eziologico delle patologie cardiache e aortiche (dissecazione aortica in 2 casi) che hanno causato il decesso è ampio nella nostra casistica e include anche patologie inusuali nelle casistiche di MCI, misconosciute prima del verificarsi dell'evento, come il

caso di amiloidosi cardiaca o di sarcoidosi cardiaca massiva, o patologie meno frequenti come il caso di dissecazione aortica di tipo III.

Come è evidente dalla Tabella 8, nella quale sono sintetizzate le principali cause di morte in alcune casistiche di singoli centri disponibili in letteratura, alcune delle quali rilevanti dal punto di vista numerico, la confrontabilità delle percentuali delle varie patologie è resa difficile da vari fattori:

- uso di differenti protocolli e criteri diagnostici;
- periodi temporali in cui sono stati condotti gli studi molto diversificati, variabili dal 1960 al 2015;
- popolazioni studiate differenti per etnia e per intervalli di età;
- differenti denominazioni per i raggruppamenti diagnostici.

I dati divengono più omogenei solo nei lavori più recentemente pubblicati.

Gli elementi interessanti da analizzare nella nostra casistica sono vari.

1. Nonostante la popolazione di studio sia più “anziana” (range di età 1-55 anni), la malattia coronarica è stata riscontrata in una percentuale (23.1%) di casi simile a quelle di casistiche con popolazioni più giovani (Kramer et al; Basso et al; Bagnall et al; Jayaraman et al). Tra questi, la patologia dissecativa delle coronarie costituisce una percentuale consistente (20%) rispetto alla più usuale malattia coronarica atero-trombotica.
2. Le malattie del miocardio, dizione che accomuna le forme di cardiomiopatie su base genetica e le patologie acquisite, rappresentano le cause più frequenti di MCI con una percentuale complessiva (39.9%) in linea con quelle riportate nei lavori più recenti per le cardiopatie strutturali non ischemiche nelle fasce d'età giovanili (Hayhashi M 2015; Puranik R 2005; Ikeda T 2007). Fra queste le miocarditi/malattie infiammatorie del miocardio, patologie caratterizzate da un'ampia variabilità nelle diverse casistiche proprio per la mancanza di criteri diagnostici uniformi all'esame del cuore in toto, rappresentano il 16.9% della casistica totale e, dato da sottolineare, nel 43% dei casi sono costituite da forme istologiche aggressive.
3. Di particolare interesse è il gruppo di pazienti in cui lo studio anatomo-patologico ha individuato forme di cardiopatia/cardiomiopatia dilatativa (CMPD). Alcune caratteristiche differenziano tali pazienti da altri raggruppamenti diagnostici, sia in termini di età media (46 ± 8.2 anni, con range fra 39 e 55 anni), paragonabile a quella dei casi con malattia coronarica (47.2 ± 5.9 , con range fra 36 e 54 anni) più

che a quella dei pazienti con altre forme di cardiomiopatie su base genetica (aritmogena ed ipertrofica) o con possibili sindromi aritmiche primarie, che per il fatto che il sesso femminile è rappresentato in questo gruppo in percentuale uguale al sesso maschile. Pur mostrando i cuori un inequivocabile substrato morfologico patologico all'esame macroscopico ed istologico, per cui la cardiopatia è intervenuta con elevata probabilità nel causare il decesso, l'analisi genetica non ha fornito ulteriori elementi diagnostici (in un solo caso ha evidenziato una VUS su un gene non chiaramente associato al fenotipo): la diagnosi è quindi stata posta sulla base del solo quadro anatomo-patologico di cardiopatia/cardiomiopatia dilatativa senza ulteriori specificazioni eziologiche. Questi dati rispecchiano la ben nota difficoltà nel definire l'eziologia in questo gruppo diagnostico, sia per i quadri morfologici aspecifici, sia per le conoscenze ancora molto limitate dal punto di vista della caratterizzazione genetica. Innalzare l'età della popolazione di studio rispetto a quelle usualmente considerate nelle MCI giovanili, utilizzare percorsi diagnostici articolati e raccogliere materiale adeguato per studi approfonditi sono di aiuto per riuscire a discriminare fra cardiopatie acquisite o forme dovute a cause multifattoriali e possibili cardiomiopatie su base genetica potenzialmente trasmissibili. La genericità diagnostica in questo gruppo è simile solo a quella del gruppo delle possibili sindromi aritmiche primarie.

4. I casi con cuori strutturalmente normali all'esame anatomo-patologico sono in numero esiguo nella nostra casistica (14.5%), dato discordante rispetto ad altre serie autoptiche, nelle quali rappresenta il reperto più frequente (Tabella 8). Protocolli che includono un campionamento molto esteso per esame istologico possono sicuramente contribuire a diminuire il numero di questi casi, che sono solitamente attribuiti ad aritmie cardiache primarie, la maggior parte delle quali ascrivibili a patologie aritmiche su base genetica, in genere non caratterizzate da alterazioni macroscopiche e microscopiche di rilievo. I casi in cui sono state accertate geneticamente sindromi aritmiche o in cui è stata individuata una VUS in geni che codificano per malattie cardiache aritmiche erano per la maggior parte erano caratterizzati da cuori con alterazioni macroscopiche o istologiche.
5. Da ultimo, dato l'importante apporto di casi medico-legali nella rete, a differenza di casistiche anatomo-patologiche o cardiologiche, le indagini tossicologiche sono state impiegate in un numero rilevante di casi (44%), con un significativo contributo all'individuazione della causa del decesso in 3 casi. Il riscontro di dosi tossiche di

sostanze da abuso in altri 3 casi ha rappresentato una concausa importante nello sviluppo della patologia aterosclerotica e, verosimilmente dell'evento trombotico acuto, in 2 casi. In un caso la presenza di alte dosi di cocaina nel sangue ha costituito un forte stimolo di innesco dell'aritmia fatale (1 paziente affetto da sindrome di Brugada).

Meno rilevante è invece risultato il contributo delle indagini microbiologiche.

Analisi genetica e screening familiare

La discussione specialistica e approfondita dei risultati dell'analisi genetica esula dagli scopi dello studio, che intende valutare gli aspetti operativi della rete multidisciplinare.

I nostri risultati riaffermano, comunque, che il contributo diagnostico della genetica aumenta considerevolmente quando il quadro anatomo-patologico indirizza su una ricerca mirata. L'efficacia dell'indagine nei casi con cuori strutturalmente normali o quando il quadro anatomo-patologico è più aspecifico, come nelle cardiopatie/cardiomiopatie dilatative, è decisamente inferiore, per quanto vada segnalato che la percentuale maggiore di casi con materiale non idoneo si è concentrata, nella nostra casistica, appunto in tali evenienze.

Spunti di discussione importanti derivano, invece, dalla contestualizzazione dei risultati dell'analisi genetica nello screening delle famiglie.

In 22 casi (44%) con una possibile patologia su base genetica sono state contattate le famiglie e proposte indagini di screening. In 12 di tali casi l'analisi genetica ha portato all'individuazione di una variante di sequenza in uno dei geni analizzati (associata o meno al fenotipo). In particolare:

- una mutazione patogena su un gene associato al fenotipo: 2 famiglie (PKP2-ARVC, FLNC-CMD-ALVC);
- una variante probabilmente patogena in un gene compatibile col fenotipo osservato: 3 famiglie (DSP-ALVC, MYH6-CMPI, SCN5A-Sd.Brugada);
- una variante probabilmente patogena in un gene compatibile con cardiomiopatia ipertrofica, in assenza di un quadro anatomo-patologico consonante (causa del decesso: dissezione coronarica distale in cuore non ipertrofico), ma in linea con alcuni fenotipi emergenti dallo studio dei familiari: 1 famiglia (MYBPC3);
- VUS in geni potenzialmente associati al fenotipo osservato: 2 famiglie (KCNQ1-QTlungo, RYR2-TV);

- VUS in un gene non chiaramente associato al fenotipo: 2 famiglie (KCNE1-CMPD, TGFB3-Brugada);
- VUS probabilmente benigna ma in gene associato al fenotipo: 2 famiglie (PKP2-ARVC, TGFB2+MYLK+COL5A1 in dissezione aortica);
- VUS probabilmente benigna ma in gene associato a fenotipo aritmico in cuore strutturalmente normale: 1 famiglia (PKP2-ARVC).

In 5 casi è stata identificata una doppia variante di sequenza.

Sono state già valutate 10 famiglie (45%); altre 4 (18%) sono in corso di valutazione. Sette famiglie (32%) non sono rintracciabili, 1 (5%) è stata valutata presso un altro centro per motivi logistici.

La valutazione fenotipica è stata condotta in un totale di 28 persone (4 con età < 14 anni), con età media al momento della prima valutazione di 40 anni (M/F 18/10). Tutti i familiari sono stati sottoposti a ECG, ecocardiogramma e visita cardiologica. In funzione della patologia in esame e del quadro strumentale gli esami di base sono stati integrati con: ECG Holter-24 ore in 18 casi, ECG da sforzo in 6, RM cardiaca in 12, test all'ajimalina programmato in 2 casi.

Dal punto di vista fenotipico abbiamo identificato 4 parenti affetti/probabilmente affetti in 4 differenti famiglie (14% del totale di persone valutate). In particolare: 1 caso di cardiomiopatia aritmogena del ventricolo sinistro (ALCV); 1 caso di ALCV/CMPD; 1 caso sospetto per sindrome del QT lungo; 1 caso di CMPD.

In 7 delle 10 famiglie studiate avevamo a disposizione almeno un dato genetico e a tutte le famiglie è stata proposta la ricerca delle varianti di sequenza (patogene, VUS, probabilmente patogene, probabilmente benigne, di significato sconosciuto) trovate nel probando per completare lo studio di segregazione tra genotipo e fenotipo nella famiglia.

In caso di minorenni è stata proposta la ricerca della mutazione del probando solo in presenza di mutazioni patogene o di chiara presenza di malattia nel familiare valutato, dopo adeguato counselling. Si sono sottoposte al test 19 persone. I minorenni con test in corso sono 2.

In 10 casi (53%) i parenti sono risultati portatori della variante riscontrata nel probando (2 casi sono ancora in corso).

Lo studio di segregazione tra genotipo e fenotipo nelle famiglie ha portato all'identificazione delle seguenti situazioni:

- fenotipo positivo + genotipo positivo (mutazione causativa nota): ALVC-FLNC: 2 pazienti;

- fenotipo positivo (CMPD) + genotipo positivo (VUS in gene non correlato al fenotipo del probando (CMPD): 1 paziente. Lo screening familiare ha confermato in questo caso l'ipotesi diagnostica di CMPD identificata nel probando allo studio anatomico patologico. Il ruolo della VUS è ancora da stabilire;
- fenotipo positivo e geno positivo (VUS su gene compatibile col fenotipo): 1 paziente. Lo studio della famiglia conferma la segregazione tra fenotipo e genotipo (ALVC-DSP). Nel probando, ma non nel familiare affetto, era presente una seconda VUS in un gene correlato al fenotipo osservato (TMEM43). È possibile solo ipotizzare un suo ruolo nel probando che presentava una maggiore complessità genotipica (doppia mutazione → morte improvvisa);
- genotipo positivo (VUS in gene potenzialmente correlato al fenotipo) + possibile espressione fenotipica: 1 paziente con LQTS-KCNQ1. Lo studio di segregazione della famiglia orienta per potenziale ruolo patogeno della VUS;
- fenotipo negativo e genotipo positivo (VUS su gene possibilmente correlato al fenotipo KCNQ1): 1 paziente che sta proseguendo il follow-up;
- genotipo positivo (mutazione PKP2) e fenotipo negativo: 2 pazienti in follow-up;
- genotipo positivo (VUS-TGFB3) e fenotipo in corso di definizione (test ajimalina): 1 paziente;
- genotipo positivo (VUS su gene non correlato al fenotipo - KCNE1) e fenotipo negativo: 1 paziente.

6. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

In conclusione, la proposta di costituire una rete multidisciplinare basata sulla pratica di collaborazione interdisciplinare tra patologi specializzati in patologia cardiovascolare, medici legali, cardiologi e genetisti clinici e molecolari ha raccolto l'adesione di numerosi Centri di Medicina Legale e Anatomia Patologica della regione Emilia-Romagna, dimostrando l'esistenza di una reale esigenza nella pratica sanitaria di una rete stabile di riferimento.

Il lavoro svolto nei primi due anni ha già conseguito alcuni importanti risultati:

- iniziare a condividere procedure e protocolli standardizzati per l'esame dei casi di MCI;
- conseguire un numero rilevante di diagnosi definite della patologia cardiaca che ha causato il decesso;
- sensibilizzare l'ambito giudiziario sull'importanza sanitaria di eseguire le autopsie/riscontri diagnostici nei casi di MCI;
- mirare selettivamente, grazie all'approccio sequenziale adottato, indagini diagnostiche costose, con una conseguente ottimale gestione delle risorse economiche in un campo che richiede comunque protocolli diagnostici complessi.

L'aspetto più rilevante dell'esperienza è stato quello di avviare un percorso stabile e istituzionale perché i risultati diagnostici dell'autopsia potessero giungere alle famiglie dei pazienti deceduti, consentendo lo screening dei parenti di primo grado sulla base di diagnosi circostanziate e non generiche nella maggior parte dei casi.

Siamo entrati in un rapporto stabile con varie famiglie, tanto più prezioso per le complesse situazioni emotive che inevitabilmente tali decessi comportano, rendendo possibile l'identificazione:

- a cascata di parenti ammalati su cui poter prendere preventivamente importanti decisioni anche “salva-vita”;
- di soggetti portatori dello stesso substrato genetico del probando, non affetti ma potenzialmente a rischio, cui poter offrire un appropriato follow-up clinico-strumentale e una corretta gestione delle famiglie in cui è intervenuto un caso di MCI;
- di una malattia maggiormente espressa nel parente, che possa chiarire o confermare l’orientamento diagnostico suggerito dall’esame anatomico-patologico autoptico, anche in assenza di un riscontro genetico;
- dell’eventuale ruolo patogeno di nuove mutazioni mediante lo studio di segregazione tra genotipo e fenotipo nella famiglia.

I risultati conseguiti avvalorano un importante messaggio in controtendenza rispetto alle pratiche sanitarie correnti: riaffermare il valore dell'autopsia e del riscontro diagnostico in un periodo che vede, negli ultimi decenni, il costante e progressivo declino del numero delle autopsie sia in ambito ospedaliero che medico-legale.

Il conseguimento di tali risultati è un chiaro incoraggiamento a creare un percorso sanitario regionale per i casi di MCI, che preveda uno stretto rapporto operativo tra gruppi di riferimento e reti locali, per poter giungere a delineare lo spettro eziologico delle morti cardiache improvvise/inspiegate in età medio-giovane in Emilia Romagna e i meccanismi del decesso, e a costituire un Registro Regionale delle MCI comprensivo dei dati autoptici, clinici, molecolari e genetici.

Le prospettive di sviluppo in termini di ricerca sono numerose.

Citiamo, a titolo di esempio, il progetto avviato al Sant’Orsola “Diagnosi e prevenzione della morte improvvisa giovanile in Emilia-Romagna”, che di recente è stato approvato dal comitato etico, nato proprio dall’analisi dei risultati conseguiti nei primi 50 casi esaminati. Il progetto si propone di applicare, in casi selezionati in cui l’analisi genetica standard abbia fornito risultati negativi o inconclusivi (varianti di incerto significato clinico in uno o più elementi della stessa famiglia), l’analisi della sequenza dell’intero esoma (whole exome sequencing, WES). Poiché la tecnologia WES rivela per sua natura un gran numero (oltre 10000) di varianti genetiche, la loro interpretazione viene di norma effettuata confrontando le varianti presenti nel soggetto affetto con quelle riscontrate nei familiari di primo grado

non affetti (tipicamente entrambi i genitori). La logica sottostante è che le varianti condivise possano considerarsi non causative mentre le varianti presenti esclusivamente nell'affetto rappresentano potenziali candidati a un ruolo causativo nell'insorgenza della patologia. Inoltre, anche in assenza di uno o entrambi i genitori, la tecnologia WES applicata al solo soggetto deceduto può fornire risultati utili, ad esempio rivelando il coinvolgimento di geni causativi di patologie cardiache in casi molto rari e, per questo motivo, esclusi dai pannelli di geni utilizzati nella normale pratica clinica. L'interesse per questo studio è motivato anche dal generale consenso nella comunità scientifica, sostenuto da diverse meta-analisi, che l'analisi genetica tramite WES possa risolvere dal 20% a oltre il 30% dei casi nell'ambito delle malattie monogeniche.

7. BIBLIOGRAFIA

Adabag AS, Luepker RV, Roger VL, Gersh BJ. Sudden cardiac death: epidemiology and risk factors. *Nat Rev Cardiol*. 2010 Apr;7(4):216-25. doi: 10.1038/nrcardio.2010.3. Epub 2010 Feb 9. PMID: 20142817; PMCID: PMC5014372.

Albert CM, Chae CU, Grodstein F, Rose LM, Rexrode KM, Ruskin JN, Stampfer MJ, Manson JE. Prospective study of sudden cardiac death among women in the United States. *Circulation*. 2003 Apr 29;107(16):2096-101. doi: 10.1161/01.CIR.0000065223.21530.11. Epub 2003 Apr 14. PMID: 12695299.

Aretz HT. Myocarditis: the Dallas criteria. *Hum Pathol*. 1987 Jun;18(6):619-24. doi: 10.1016/s0046-8177(87)80363-5. PMID: 3297992.

Autore C, Pagannone E, Re F, Romeo D, Musumeci B, Baratta P, Marino L, Cauti FM, Zachara E. Screening cardiologico delle famiglie con storia di morte improvvisa giovanile: quali patologie ricercare e con quali strumenti. *G Ital Cardiol* 2010; 11 (7-8): 557-565.

Bagnall RD, Singer ES, Tfelt-Hansen J. Sudden Cardiac Death in the Young. *Heart Lung Circ*. 2020 Apr;29(4):498-504. doi: 10.1016/j.hlc.2019.11.007. Epub 2019 Dec 12. PMID: 32029328.

Bagnall RD, Weintraub RG, Ingles J, Duflou J, Yeates L, Lam L, Davis AM, Thompson T, Connell V, Wallace J, Naylor C, Crawford J, Love DR, Hallam L, White J, Lawrence C, Lynch M, Morgan N, James P, du Sart D, Puranik R, Langlois N, Vohra J, Winship I, Atherton J, McGaughran J, Skinner JR, Semsarian C. A Prospective Study of Sudden Cardiac Death among Children and Young Adults. *N Engl J Med*. 2016 Jun 23;374(25):2441-52. doi: 10.1056/NEJMoa1510687. PMID: 27332903.

Basso C, Calabrese F, Corrado D, Thiene G. Postmortem diagnosis in sudden cardiac death victims: macroscopic, microscopic and molecular findings. *Cardiovasc Res* 2001; 50: 290-300

Basso C, Aguilera B, Banner J, Cohle S, d'Amati G, de Gouveia RH, di Gioia C, Fabre A, Gallagher PJ, Leone O, Lucena J, Mitrofanova L, Molina P, Parsons S, Rizzo S, Sheppard MN, Mier MPS, Kim Suvarna S, Thiene G, van der Wal A, Vink A, Michaud K; Association for European Cardiovascular Pathology. Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death: 2017 update from the Association for European Cardiovascular Pathology. *Virchows Arch.* 2017 Dec;471(6):691-705. doi: 10.1007/s00428-017-2221-0. Epub 2017 Sep 9. PMID: 28889247; PMCID: PMC5711979.

Basso C, Perazzolo Marra M, Rizzo S, De Lazzari M, Giorgi B, Cipriani A, Frigo AC, Rigato I, Migliore F, Pilichou K, Bertaglia E, Cacciavillani L, Bauce B, Corrado D, Thiene G, Iliceto S. Arrhythmic Mitral Valve Prolapse and Sudden Cardiac Death. *Circulation.* 2015 Aug 18;132(7):556-66. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016291. Epub 2015 Jul 9. PMID: 26160859.

Beck B, Bray J, Cameron P, Smith K, Walker T, Grantham H, Hein C, Thorrowgood M, Smith A, Inoue M, Smith T, Dicker B, Swain A, Bosley E, Pemberton K, McKay M, Johnston-Leek M, Perkins GD, Nichol G, Finn J; Aus-ROC Steering Committee. Regional variation in the characteristics, incidence and outcomes of out-of-hospital cardiac arrest in Australia and New Zealand: Results from the Aus-ROC Epistry. *Resuscitation.* 2018 May;126:49-57. doi: 10.1016/j.resuscitation.2018.02.029. Epub 2018 Mar 2. PMID: 29499230.

Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Chiuve SE, Cushman M, Delling FN, Deo R, de Ferranti SD, Ferguson JF, Fornage M, Gillespie C, Isasi CR, Jiménez MC, Jordan LC, Judd SE, Lackland D, Lichtman JH, Lisabeth L, Liu S, Longenecker CT, Lutsey PL, Mackey JS, Matchar DB, Matsushita K, Mussolino ME, Nasir K, O'Flaherty M, Palaniappan LP, Pandey A, Pandey DK, Reeves MJ, Ritchey MD, Rodriguez CJ, Roth GA, Rosamond WD, Sampson UKA, Satou GM, Shah SH, Spartano NL, Tirschwell DL, Tsao CW, Voeks JH, Willey JZ, Wilkins JT, Wu JH, Alger HM, Wong SS, Muntner P; American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2018 Mar 20;137(12):e67-e492. doi: 10.1161/CIR.0000000000000558. Epub 2018 Jan 31. Erratum in: *Circulation.* 2018 Mar 20;137(12):e493. PMID: 29386200.

Blue GM et al. The promises and challenges of exome sequencing in familial non syndromic congenital heart disease. *Int J Cardiol* 230 (2017) 155-163

Chugh SS, Jui J, Gunson K, Stecker EC, John BT, Thompson B, Ilias N, Vickers C, Dogra V, Daya M, Kron J, Zheng ZJ, Mensah G, McAnulty J. Current burden of sudden cardiac death: multiple source surveillance versus retrospective death certificate-based review in a large U.S. community. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Sep 15;44(6):1268-75. doi: 10.1016/j.jacc.2004.06.029. PMID: 15364331.

Di Gioia CR, Autore C, Romeo DM, et al. Sudden cardiac death in younger adults: autopsy diagnosis as a tool for preventive medicine. *Hum Pathol* 2006; 37: 794-801.

Freed LA, Levy D, Levine RA, Larson MG, Evans JC, Fuller DL, Lehman B, Benjamin EJ. Prevalence and clinical outcome of mitral-valve prolapse. *N Engl J Med*. 1999 Jul 1;341(1):1-7. doi: 10.1056/NEJM199907013410101. PMID: 10387935.

Friedlander Y, Siscovick DS, Weinmann S, Austin MA, Psaty BM, Lemaitre RN, Arbogast P, Raghunathan TE, Cobb LA. Family history as a risk factor for primary cardiac arrest. *Circulation*. 1998 Jan 20;97(2):155-60. doi: 10.1161/01.cir.97.2.155. PMID: 9445167.

Goldstein S. The necessity of a uniform definition of sudden coronary death: witnessed death within 1 hour of the onset of acute symptoms. *Am Heart J* 1982;103:156-159

Gräsner JT, Lefering R, Koster RW, Masterson S, Böttiger BW, Herlitz J, Wnent J, Tjelmeland IB, Ortiz FR, Maurer H, Baubin M, Mols P, Hadžibegović I, Ioannides M, Škulec R, Wissenberg M, Salo A, Hubert H, Nikolaou NI, Lóczi G, Svavarsdóttir H, Semeraro F, Wright PJ, Clarens C, Pijls R, Cebula G, Correia VG, Cimpoesu D, Raffay V, Trenkler S, Markota A, Strömsöe A, Burkart R, Perkins GD, Bossaert LL; EuReCa ONE Collaborators. EuReCa ONE-27 Nations, ONE Europe, ONE Registry: A prospective one month analysis of out-of-hospital cardiac arrest outcomes in 27 countries in Europe. *Resuscitation*. 2016 Aug;105:188-95. doi: 10.1016/j.resuscitation.2016.06.004. Epub 2016 Jun 16. Erratum in: *Resuscitation*. 2016 Dec;109 :145-146. PMID: 27321577.

Hayashi M, Shimizu W, Albert CM. The spectrum of epidemiology underlying sudden cardiac death. *Circ Res.* 2015 Jun 5;116(12):1887-906. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304521. PMID: 26044246; PMCID: PMC4929621.

Holst AG, Winkel BG, Theilade J, Kristensen IB, Thomsen JL, Ottesen GL, Svendsen JH, Haunsø S, Prescott E, Tfelt-Hansen J. Incidence and etiology of sports-related sudden cardiac death in Denmark--implications for preparticipation screening. *Heart Rhythm.* 2010 Oct;7(10):1365-71. doi: 10.1016/j.hrthm.2010.05.021. Epub 2010 May 15. PMID: 20580680.

Ikeda T, Yusu S, Nakamura K, Yoshino H. Risk stratification for sudden cardiac death. *Circ J.* 2007;71 Suppl A:A106-14. doi: 10.1253/circj.71.a106. PMID: 17587733.

Jayaraman R, Reinier K, Nair S, Aro AL, Uy-Evanado A, Rusinaru C, Stecker EC, Gunson K, Jui J, Chugh SS. Risk Factors of Sudden Cardiac Death in the Young: Multiple-Year Community-Wide Assessment. *Circulation.* 2018 Apr 10;137(15):1561-1570. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031262. Epub 2017 Dec 21. PMID: 29269388; PMCID: PMC5918307.

Junttila MJ, Hookana E, Kaikkonen KS, Kortelainen ML, Myerburg RJ, Huikuri HV. Temporal Trends in the Clinical and Pathological Characteristics of Victims of Sudden Cardiac Death in the Absence of Previously Identified Heart Disease. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2016 Jun;9(6):e003723. doi: 10.1161/CIRCEP.115.003723. PMID: 27301265.

Kitamura T, Iwami T, Kawamura T, Nitta M, Nagao K, Nonogi H, Yonemoto N, Kimura T; Japanese Circulation Society Resuscitation Science Study Group. Nationwide improvements in survival from out-of-hospital cardiac arrest in Japan. *Circulation.* 2012 Dec 11;126(24):2834-43. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.109496. Epub 2012 Oct 3. PMID: 23035209.

Leone O, Pieroni M, Rapezzi C, Olivetto I. The spectrum of myocarditis: from pathology to the clinics. *Virchows Arch.* 2019 Sep;475(3):279-301. doi: 10.1007/s00428-019-02615-8. Epub 2019 Jul 11. PMID: 31297595.

Marcondes L, Crawford J, Earle N, Smith W, Hayes I, Morrow P, Donoghue T, Graham A, Love D, Skinner JR; Cardiac Inherited Disease Group New Zealand. Long QT molecular autopsy in sudden unexplained death in the young (1-40 years old): Lessons learnt from an eight year experience in New Zealand. *PLoS One*. 2018 Apr 19;13(4):e0196078. doi: 10.1371/journal.pone.0196078. PMID: 29672598; PMCID: PMC5909669.

Michaud K, Basso C, d'Amati G, Giordano C, Kholová I, Preston SD, Rizzo S, Sabatasso S, Sheppard MN, Vink A, van der Wal AC; Association for European Cardiovascular Pathology (AECVP). Diagnosis of myocardial infarction at autopsy: AECVP reappraisal in the light of the current clinical classification. *Virchows Arch*. 2020 Feb;476(2):179-194. doi: 10.1007/s00428-019-02662-1. Epub 2019 Sep 14. PMID: 31522288; PMCID: PMC7028821.

Michelle MC et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases *Genomic Medicine* 3,: 16 (2018)

Myerburg RJ, Junttila MJ. Sudden cardiac death caused by coronary heart disease. *Circulation*. 2012 Feb 28;125(8):1043-52. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.023846. PMID: 22371442.

Nalliah CJ, Mahajan R, Elliott AD, Haqqani H, Lau DH, Vohra JK, Morton JB, Semsarian C, Marwick T, Kalman JM, Sanders P. Mitral valve prolapse and sudden cardiac death: a systematic review and meta-analysis. *Heart*. 2019 Jan;105(2):144-151. doi: 10.1136/heartjnl-2017-312932. Epub 2018 Sep 21. PMID: 30242141.

Puranik R, Chow CK, Duflou JA, Kilborn MJ, McGuire MA. Sudden death in the young. *Heart Rhythm*. 2005 Dec;2(12):1277-82. doi: 10.1016/j.hrthm.2005.09.008. PMID: 16360077.

Quan XQ, Li S, Liu R, Zheng K, Wu XF, Tang Q. A meta-analytic review of prevalence for Brugada ECG patterns and the risk for death. *Medicine (Baltimore)*. 2016

Dec;95(50):e5643. doi: 10.1097/MD.0000000000005643. PMID: 27977610; PMCID: PMC5268056.

Shah KS, Shah AS, Bhopal R. Systematic review and meta-analysis of out-of-hospital cardiac arrest and race or ethnicity: black US populations fare worse. *Eur J Prev Cardiol.* 2014 May;21(5):619-38. doi: 10.1177/2047487312451815. Epub 2012 Jun 12. PMID: 22692471.

Sheppard M, Osbor M Guidelines on autopsy practice: Sudden death with likely cardiac pathology July 2015 The royal college of pathologists

Siddharth S. et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neuro-developmental disorders. *Genetics in Medicine* 21, 2413–2421(2019)

Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation.* 1995 Sep 1;92(5):1355-74. doi: 10.1161/01.cir.92.5.1355. PMID: 7648691.

Uhm JS, Hwang IU, Oh YS, Choi MS, Jang SW, Shin WS, Kim JH, Lee MY, Rho TH, Kim YH, Sung JH, Lee YS, Cho JG, Oh DJ, Kim DK, Namgung J, Park KM, Kim YH, Kim YN, Lim HE, Cha TJ, On YK, Shin DG, Pak HN, Kim NH. Prevalence of electrocardiographic findings suggestive of sudden cardiac death risk in 10,867 apparently healthy young Korean men. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2011 Jun;34(6):717-23. doi: 10.1111/j.1540-8159.2010.03024.x. Epub 2011 Feb 17. PMID: 21332562.

Vitosevic K, Todorovic M, Varljen T, Slovic Z, Matic S, Todorovic D. Effect of formalin fixation on pcr amplification of DNA isolated from healthy autopsy tissue. *Acta Histochemica* 2018; 120: 780-788).

Whang W, Manson JE, Hu FB, Chae CU, Rexrode KM, Willett WC, Stampfer MJ, Albert CM. Physical exertion, exercise, and sudden cardiac death in women. *JAMA*. 2006 Mar 22;295(12):1399-403. doi: 10.1001/jama.295.12.1399. PMID: 16551711.

Winkel BG, Holst AG, Theilade J, Kristensen IB, Thomsen JL, Ottesen GL, Bundgaard H, Svendsen JH, Haunsø S, Tfelt-Hansen J. Nationwide study of sudden cardiac death in persons aged 1-35 years. *Eur Heart J*. 2011 Apr;32(8):983-90. doi: 10.1093/eurheartj/ehq428. Epub 2010 Dec 2. PMID: 21131293.

Wong CX, Brown A, Lau DH, Chugh SS, Albert CM, Kalman JM, Sanders P. Epidemiology of Sudden Cardiac Death: Global and Regional Perspectives. *Heart Lung Circ*. 2019 Jan;28(1):6-14. doi: 10.1016/j.hlc.2018.08.026. Epub 2018 Sep 24. PMID: 30482683.

Zheng ZJ, Croft JB, Giles WH, Mensah GA. Sudden cardiac death in the United States, 1989 to 1998. *Circulation*. 2001 Oct 30;104(18):2158-63. doi: 10.1161/hc4301.098254. PMID: 11684624.

8. APPENDICE

Figura 1

Flowchart della rete multidisciplinare per la Morte Cardiaca Improvvisa

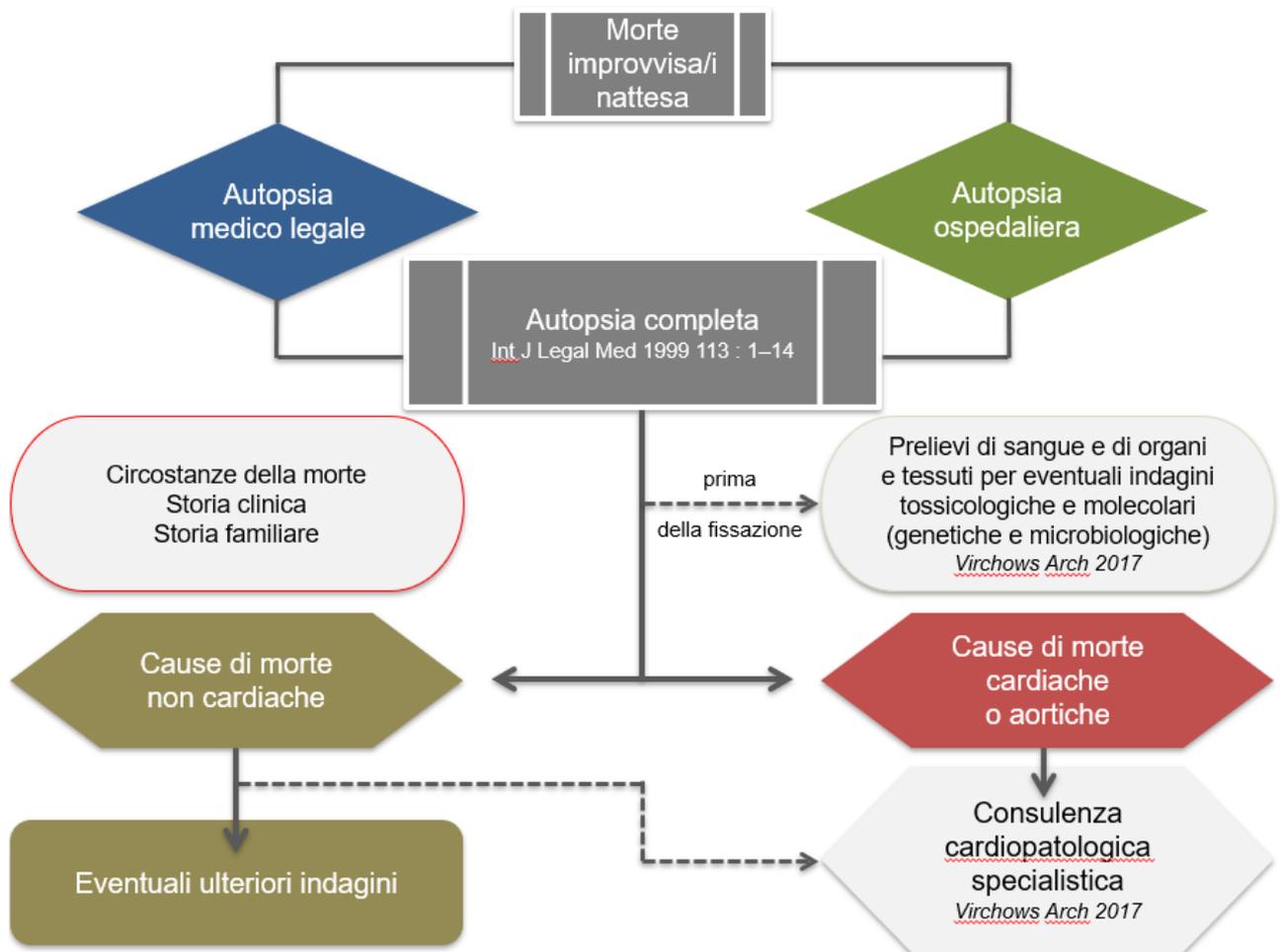


Figura 2

Certainty of diagnosis of cardiovascular substrates of SCD at post-mortem

From: Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death: 2017 update from the Association for European Cardiovascular Pathology

	Certain	Highly probable	Uncertain
Coronary artery disease (native coronary arteries/stent/grafts/cardiac allograft)	Myocardial infarction, acute (any cause)	Chronic ischemic heart disease (ischemic scar, any cause)	Anomalous RCA origin from the left sinus with inter-arterial course
	Acute coronary occlusion (atherothrombosis, arteritis, dissection or embolism, cardiac allograft vasculopathy)	Atherosclerotic plaque with coronary luminal stenosis > 75%	Wrong aortic sinus coronary artery anomalies without inter-arterial course
	Coronary ostia mechanical obstruction (aortic or valve prosthesis, tumor, vegetation)	Anomalous LCA origin from the right sinus with inter-arterial course	High take-off from the tubular portion
	Anomalous origin of the coronary artery from the pulmonary trunk		Anomalous LCx origin from the right sinus or coronary artery
			Anomalous LAD origin with course anterior to the pulmonary artery
			Coronary ostia plication
			Intra-myocardial course of LAD (myocardial bridge)
Small vessel disease			
Myocardial diseases	Acute diffuse myocarditis (any morphological type)	Hypertrophic CM	Focal myocarditis
		Arrhythmogenic CM	Idiopathic LV hypertrophy
		Dilated CM	
		Idiopathic fibrosis (non-ischemic LV scar)	Hypertensive heart disease
		Multifocal myocarditis	Hypertrabeculation (non-compacted) myocardium
		Sarcoidosis	
		Storage diseases	
Amyloidosis			
Native /prosthetic valves diseases	Mitral valve papillary muscle or chordae tendineae rupture with	Calcific aortic valve stenosis with LV	Moderate aortic valve sclerosis without LV

	Certain	Highly probable	Uncertain
	mitral valve incompetence and pulmonary edema	hypertrophy and fibrosis	hypertrophy/ mitral annular calcification
	Thrombotic block or endocarditis vegetations on valve prosthesis	Myxoid degeneration of the mitral valve (prolapse) with atrial dilatation or LV myocardial fibrosis and intact chordae	Dystrophic calcification of the membranous septum (+/- mitral annulus/aortic valve)
	Laceration/Dehiscence/Leaflet escape of valve prosthesis with acute valve incompetence		Aortic insufficiency (dilated aortic annulus)
			Myxoid degeneration of the mitral valve (prolapse) without atrial dilatation or LV fibrosis and intact chordae
Conduction system diseases		AV node cystic tumor	Hemorrhage of the sub-aortic septum
		Purkinje cell hamartoma	Fibrosis of RBB and LBB (Lenègre disease)
		Sarcoidosis of the AV conduction system	
		Surgical stiches, perimembranous	
Congenital heart diseases	BAV and/or Isthmic coarctation with aortic dissection	Tetralogy of Fallot, surgical repair +/-pulmonary valve incompetence and RV dilatation	CHD with septal defect, no obstructive pulmonary vascular disease, repaired or unrepaired
		Congenital aortic stenosis (supra-, sub- or valvular) or isthmic coarctation with LV hypertrophy and fibrosis	Any other unrepaired CHD
		CHD with septal defects, repaired or unrepaired, and obstructive pulmonary vascular disease (Eisenmenger syndrome)	
		CHD with perimembranous VSD, postero-	

	Certain	Highly probable	Uncertain
		inferior rim stitch Corrected TGA (unrepaired) Ebstein anomaly Atrio-ventricular anomalous pathway (Kent fascicle) TGA, atrial or arterial switch operation CHD with RV-pulmonary artery conduit repair CHD with univentricular or one and half repair Ross operation	
Others	Massive pulmonary embolism Hemopericardium (aortic rupture/dissection or cardiac rupture) Myxoma or other tumor/thrombus obstructing a valve orifice	Intramural ventricular/septal tumor	Atrial septum lipoma Congenital partial absence of pericardium

1. AV atrio-ventricular, BAV bicuspid aortic valve, CHD congenital heart disease, CM cardiomyopathy LAD left anterior descending, LBB left bundle branch, LCA left coronary artery, LCx left circumflex, LV left ventricle, RBB right bundle branch, RCA right coronary artery, RV right ventricle, TGA transposition of the great arteries, VSD ventricular septal defect

Tabella 1. Dati generali

Caratteristiche generali	
Totale casi	50
Età media	35 ± 13,6 (range 1-55, media 35, mediana 38)
Maschi	35 (70%)
Età media	33 ± 14,4 (range 1-55, media 33, mediana 32)
Femmine	15 (30%)
Età media	38,6 ± 11,2 (range 15-54, media 38.6, mediana 41)
Percorso di invio	
Medicina Legale	31 (62%)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Procura ▪ Autopsie amministrative 	22 (70%) 9 (30%)
Anatomia Patologica	18 (36%)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Banca Regionale tessuti cardiovascolari ▪ Riscontri diagnostici ospedalieri 	10 (55.5%) (20% sul totale invii) 8 (44.5%)
Famiglia	1 (2%)
Città delle Strutture invianti	
Bologna	19 (38%)
Imola	7 (14%)
Rimini	6 (12%)
Parma	5 (10%)
Modena	4 (8%)
Reggio Emilia	4 (8%)
Ferrara	2 (4%)
Ravenna	2 (4%)
Pistoia	1 (2%)
Luogo del decesso	
Casa	23 (46%)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Testimoniato ▪ Non testimoniato 	16 (69.5%) 7 (30.5%)
Esterno	26 (52%)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Automobile ▪ Lavoro ▪ Durante attività sportiva ▪ Altri luoghi pubblici ▪ Scuola 	8 (30.9%) 7 (27%) 5 (19.2%) 4 (15.3%) 2 (7.6%)
Testimoniato	19 (73%)
Non testimoniato	7 (27%)
Non noto	1 (2%)
Circostanze decesso	
Sforzo	6 (12%)
Riposo	28 (56%)
Non note	16 (32%)
Ricovero prima del decesso	
Si	22 (44%)
No	28 (56%)

Tabella 2: Indagini e percorsi diagnostici

Indagini diagnostiche eseguite	
Anatomia Patologica	50 (100%)
Genetica	32 (64%)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pannello aritmie ▪ Pannello CMP + aritmie ▪ Pannello CMP ▪ Pannello di 174 geni ▪ Pannello CMP + aorta ▪ Pannello aorta ▪ Coagulazione 	10 (31.2%) 11 (34,5%) 4 (12.5%) 4 (12.5%) 1 (3.1%) 1 (3.1%) 1 (3.1%)
Indagine richiesta per conferma di quadro anatomo-patologico o anatomo-clinico	18 (56.3%) (casi in corso: 2)
Indagine richiesta per diagnosi	14 (43.7%) (28% dei casi sul totale di 50 casi) (casi in corso: 1)
Tessuti in paraffina	12 (37.5%) (50% non idoneo)
Sangue	19 (59.4%)
Tessuti congelati	1 (3.1%)
Materiale non idoneo	8 (25%) (75% tessuti in paraffina)
Tossicologia	22 (44%)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Casi positivi ▪ Casi negativi 	7 (31.8%) 15 (68.2%)
Microbiologia	2 (4%)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Casi positivi ▪ Casi negativi 	1 (50%) 1 (50%)
Percorso diagnostico (indagini utilizzate per la diagnosi)	
Anatomia patologica + genetica	20 (40%)
Anatomia patologica	10 (20%)
Anatomia patologica + genetica + tossicologia	8 (16%)
Anatomia patologica + tossicologia	7 (14%)
Anatomia patologica + genetica + clinica	2 (4%)
Anatomia patologica + genetica + tossicologia + clinica	1 (2%)
Anatomia patologica + tossicologia + microbiol.	1 (2%)
Anatomia patologica + microbiologia	1 (2%)

Tabella 3: Grado di certezza diagnostica delle cause di morte

Totale casi: 48 casi	
Causa certa + altamente probabile	41 (85.5%)
▪ Causa certa	29 (60.5%)
▪ Causa altamente probabile	12 (25%)
Causa incerta	2 (4.1%)
NC (non classificabile)	5 (10,4%)
Contributo delle indagini/percorsi diagnostici nelle cause di morte certe o altamente probabile (totale casi: 41)	
Anatomia Patologica	25 (61.3%)
Anatomia Patologica + Genetica	6 (14.7%)
Anatomia Patologica + Tossicologia	4 (9.7%)
Anatomia Patologica + Clinica	3 (7.3%)
Anatomia Patologica + Genetica + Tossicologia	1 (2.4%)
Anatomia Patologica + Genetica + Tossicologia + Clinica	1 (2.4%)
Tossicologia	1 (2.4%)

Tabella 4: Diagnosi delle cause del decesso

Diagnosi finale (48 casi)	
<p>Malattia coronarica acuta (atero-trombosi, embolia, dissezione)/Infarto: 11 (23.1%) M: 7 (63.6%); F: 4 (36.4%) Media \pm DS: 47,2 \pm 5,9 Mediana: 48 Range: 36-54</p>	<p>Trombosi coronarica acuta con infarto: 8 (73%). In 1 caso concorso di assunzione di cocaina Infarto in aterosclerosi coronarica subocclusiva: 1 (9%) Dissezione coronarica: 2 (18%)</p>
<p>MALATTIE DEL MIOCARDIO: 19 (39.9%) M: 13 (68.5%); F: 6 (31.5%) Media \pm DS: 32.2 \pm 14.8 Mediana: 29 Range: 9-55</p>	
<p>Malattie infiammatorie del miocardio: 8 (42.3%) (16.9% rispetto ai 48 casi complessivi valutati) M: 5 (62.5%); F: 3 (37.5%) Media \pm DS: 28.1 \pm 15 Mediana: 28 Range: 9-51</p> <p>Miocardite: 7 (87.5%) M: 4 (68.5%); F: 3 (31.5%) Media \pm DS: 28.1 \pm 15 Mediana: 28 Range: 9-51</p> <p>Sarcoidosi: 1 (12.5%), M, 43 anni</p>	<p>Miocardite linfocitaria: 4 (57.3%) Miocardite eosinofila necrotizzante: 2 (28.5%) Miocardite subacuta necrotizzante: 1 (14.2%)</p> <p>Malattia diffusa in stadio avanzato</p>
<p>Cardiomiopatia dilatativa; 4 (21%) (8.4% rispetto ai 48 casi complessivi valutati) M: 2 (50%); F: 2 (50%) Media \pm DS: 46 \pm 8.2 Mediana: 45 Range: 39-55</p>	<p>Probabile eziologia genetica: 2 (50%) DD cardiomiopatia dilatativa/cardiomiopatia aritmogena biventricolare: 1 (25%) Probabile eziologia acquisita: 1 (25%)</p>
<p>Cardiomiopatia aritmogena: 4 (21%) (8.4% rispetto ai 48 casi complessivi valutati) M: 4 (100%) Media \pm DS: 25.2 \pm 15.9 Mediana: 18.5 Range: 15-49</p>	<p>Predominante localizzazione sinistra: 2 (50%) Predominante localizzazione destra: 1 (25%) Biventricolare: 1 (25%)</p>
<p>Cardiomiopatia ipertrofica: 2 (10.5%) (4.2% rispetto ai 48 casi complessivi valutati) M: 2 (100%) Media \pm DS: 21 \pm 0 Mediana: 21</p>	
<p>Amiloidosi cardiaca AL: 1 (5.2%) (2% rispetto ai 48 casi complessivi valutati)</p>	<p>Severa cardiomiopatia amiloidotica in amiloidosi AL sistemica</p>
<p>Sindrome di Brugada: 3 (6.2%) M: 2 (66.7%); F: 1 (33.3%) Media \pm DS: 39 \pm 12.6 Mediana: 44 Range: 25-49</p>	<p>Diagnosi certa: 1 (33.3%) con assunzione di dosi tossiche di cocaina Diagnosi altamente probabile: 2 (66.7%)</p>

Verosimile aritmia primaria in cuore strutturalmente normale: 7 (14.5%) M: 4 (57.2%); F: 3 (42.8%) Media \pm DS: 30.7 \pm 10 Mediana: 27 Range: 22-49	Probabile concorso di miocardite focale e VUS nel gene PKP2 (cardiomiopatia aritmogena): 1 (14.2%) Tossicologia negativa: 2
Abuso sostanze: 3 (6.2%) M: 3 (100%) Media \pm DS: 33 \pm 2.6 Mediana: 32 Range: 31-36	Assunzione di dosi tossiche di morfina + miocardite tossica: 1 (33.3%) intossicazione acuta da alcool + ipertrofia e fibrosi del Vsn e del setto: 1 (33.3%) intossicazione da metadone: 1 (33.3%)
ALTRO	
Patologia valvolare: 1 (2%) M, 19 anni	Prolasso della VM con rottura corde tendinee
Dissezione aortica: 2 (4.1%) M: 1 (50%); F: 1 (50%) Media \pm DS: 42.5 \pm 0.7 Mediana: 42.5 Range: 42-43	Tipo I: 1 (50%) Tipo III: 1 (50%)
Cause miste: 1 (2%) 1M, 1 anno	Anomalia coronarica minore + VUS in KCNQ1 (Ala46Thr) - LQTS
Trauma cranico e annegamento 1 M, 17 anni (2%)	1

Tabella 5. Note in alcuni gruppi eziologici

Pazienti con patologia ischemica coronarica di età compresa fra 35 e 45 anni	4 (36.2% del totale ischemici)
Pazienti con malattie del miocardio di età ≥ 40	4 (21% del totale)
Pazienti con possibili aritmie primarie e sindrome di Brugada di età ≥ 40	2 (20% del totale)

Tabella 6. Analisi genetica

Totale casi: 32/50 (64%)	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Richiesta per conferma di quadro anatomo-patologico o anatomo-clinico 	18 (56.3%) (2 in corso)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cuori strutturalmente normali o con substrato morfologico aspecifico 	14 (43.7%) (1 in corso)
Materiale non idoneo	8 (25%)
Totale casi già valutati	21/24 (87.5%)
Mutazioni causative	2/21 casi totali (9.5%)
Varianti <ul style="list-style-type: none"> ▪ VUS ▪ Probabilmente patogena ▪ Probabilmente benigna 	10/21 totali (47.8%) <ul style="list-style-type: none"> ▪ 5/10 casi (50%) ▪ 4/10 casi (40%) ▪ 1/10 (10%)
Nessuna mutazione o variante	8/21 casi totali (38%) probabilmente da ascrivere all'uso di pannelli mirati restrittivi
Mutazione G20210A del gene della protrombina in paziente deceduto per trombosi coronarica e infarto miocardico (aumentato rischio di trombosi)	1/21 (4.7%)
Totale casi in corso	3/24 (12.5%)

Tabella 7. Screening clinico familiare

NUMERO TOTALE DI CASI = 50	
Casi completati con indicazione a screening familiare	22 (44%)
Numero di famiglie valutate	10 (45%)
Numero di famiglie con screening programmato	4 (18%)
Famiglie non rintracciabili	7 (32%)
Famiglie valutate presso altri centri	1 (5%)
FAMIGLIE STUDIATE = 10	
Numero di familiari studiati	28
Soggetti con età ≥ 14 anni	24
Familiari feno-positivi	4 (in 4 diverse famiglie)
Probandi con mutazioni o VUS	7
Famiglie con mutazioni o VUS avviate a genetica	7 (100%)
Numero di familiari avviati ad analisi genetica	19
Famiglie con almeno un portatore della mutazione/VUS	7 (100%)
Familiari geno-positivi	10 (53%, due casi in corso)

Tabella 8 Principali cause diMCI nelle casistiche precedenti

Authors, time interval	Population	Age (years)	Total no.	Principal causes (%)
Drory et al. 1976–85	Israel	9–39	118	Atherosclerotic CAD (58) Myocarditis (25) HCM (13) Conduction system (4)
Neuspiel and Kuller 1972–80	Allegheny County, US	1–21	51	Myocarditis (27) DCM (24) Conduction system (12) Aortic dissection (6) CAA (6)
Topaz and Edwards 1960–83	St. Paul, Minnesota, US	7–35	50	Atherosclerotic CAD (4) MVP (24) Myocarditis (25) HCM (12) CAA (4) Aortic stenosis (4)
Phillips et al. 1965–85	American forces, US	17–28	20	Myocarditis (42) CAA (15) HCM (10) MVP (5) Atherosclerotic CAD (5) Aortic stenosis (5)
Kramer et al. 1974–86	Soldiers, Israel	17–30	24	Myocarditis (29) HCM (25) MVP (13) Atherosclerotic CAD (13) Aortic dissection (8) CAA (4) DCM (4) Conduction system (4)
Basso et al. 1979–1999	Veneto region, Italy	1–35	273	Atherosclerotic CAD (21) ARVC (14) Valve disease (12) CAA (11) Myocarditis (10) Conduction system disease (9) HCM (7)

Winkel et al 2000-2006	Denmark	1-35	314	Normal heart (43) Ischaemic heart disease (11) Hypertrophic heart/Fibrosis (11) Myocarditis (7) Aortic dissection (7) ARVC (5)
De Noronha et al. 2007-2009	London,UK (tertiary centre)	0-35	422	Normal heart (54) Cardiomyopathies (23) CAD (5) Inflammation (5) Complex congenital heart disease (5) Valvular disease (3) Aortic disease (2) Others (3)
Bagnall et al. 2010-2012	Australia and New Zealand	1-35	490	Normal heart (40) CAD (24) Cardiomyopathies (16) Myocarditis (7) Aortic dissection (4)
Jayaraman R et al. 2002-2015	Portland, Oregon	5-34	186	Sudden arrhythmic death (31%), CAD (22%), HCM (14%)

ARVC, arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy; CAA, coronary artery anomaly; CAD, coronary artery disease; DCM, dilated cardiomyopathy; HCM, hypertrophic cardiomyopathy; MVP, mitral valve prolapse.

ICONOGRAFIA

Malattia coronarica acuta (atero-trombosi, embolia, dissezione)/Infarto: 11/48 (23%)

M: 7 (63.6%); F: 4 (36.4%)

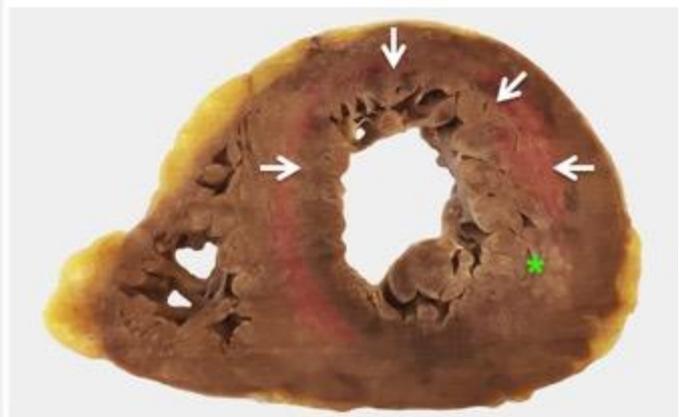
Media \pm DS: 47,2 \pm 5,9 anni; mediana: 48 anni; range: 36-54 anni

Caso n. 1. Donatore multitestito di 50 anni, deceduto per arresto cardiaco non testimoniato a domicilio in apparente buona salute.

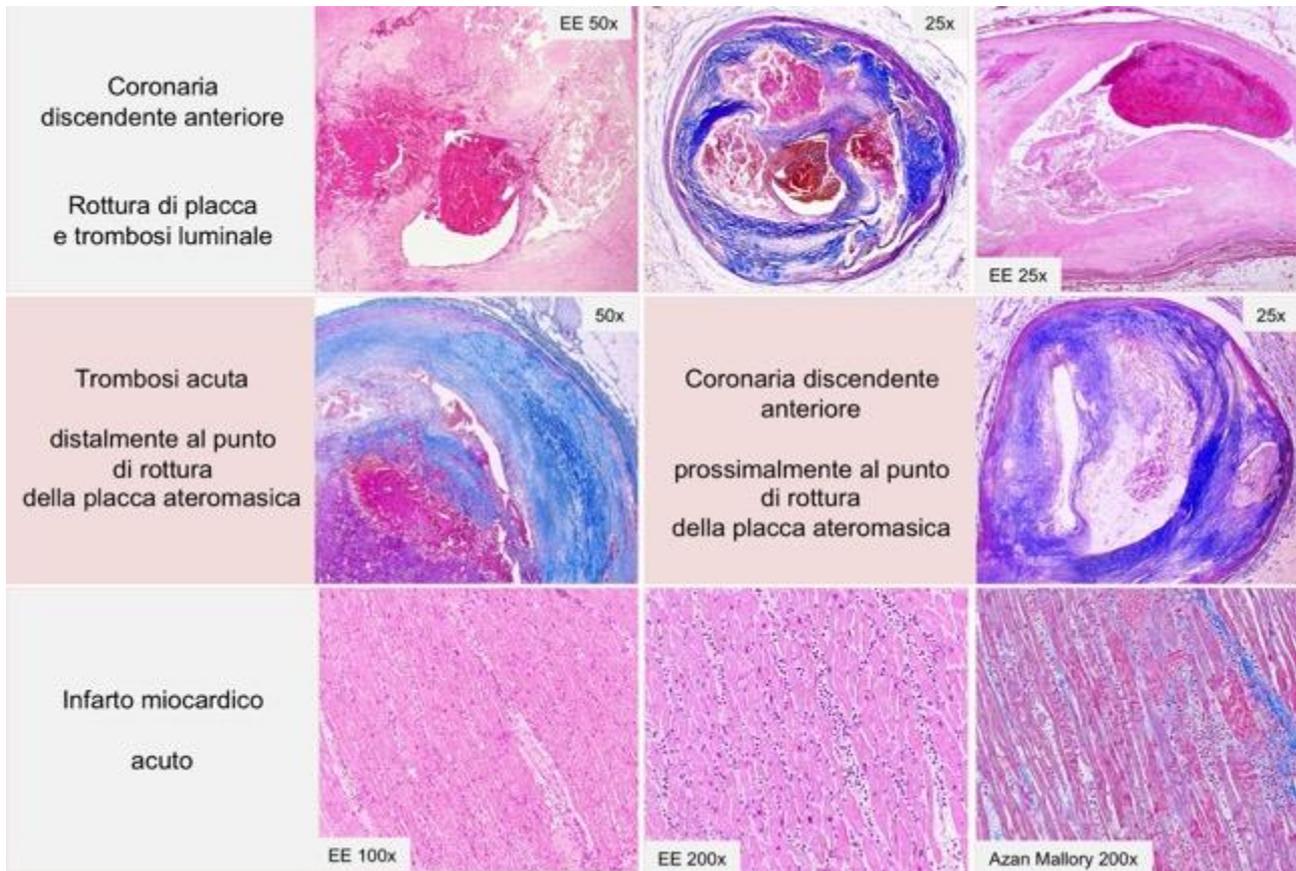
Causa del decesso. Infarto miocardico acuto antero-settale e laterale sinistro (freccie) secondario a rottura di placca ateromasica subocclusiva del ramo coronarico discendente anteriore (stenosi del 90% circa) con trombosi acuta nel lume residuo.

Altri reperti significativi. Esiti cicatriziali e/o in via di riparazione di precedente infarto miocardico subendocardico laterale sinistro (asterisco). Placca fibro-calcifica stenosante dall'80% al 90% del lume nel ramo circonflesso sinistro e placca fibro-lipidica stenosante fino al 60-70% circa del lume nella coronaria destra.

Reperti macroscopici



Reperti istologici



Caso n. 2. Donna di 36 anni deceduta per arresto cardiaco testimoniato a domicilio dopo vomito alimentare e dolore toracico.

Causa del decesso. Infarto miocardico acuto antero-settale sinistro in Paziente con placca fibro-lipidica flogosata ed erosa sub-ostruttiva nella coronaria discendente anteriore con probabile trombosi acuta (non documentata istologicamente) e aspetti macroscopici ed istologici indicativi di iniziale ischemia miocardica acuta antero-settale sinistra.

Stenosi severa del lume delle altre coronarie sub-epicardiche con placche fibro-lipidiche stenosanti l'80% circa del lume del ramo circonflesso sinistro e della coronaria destra.



Malattie del miocardio: 19/48 (40%)

M: 13 (68.5%); F: 6 (31.5%)

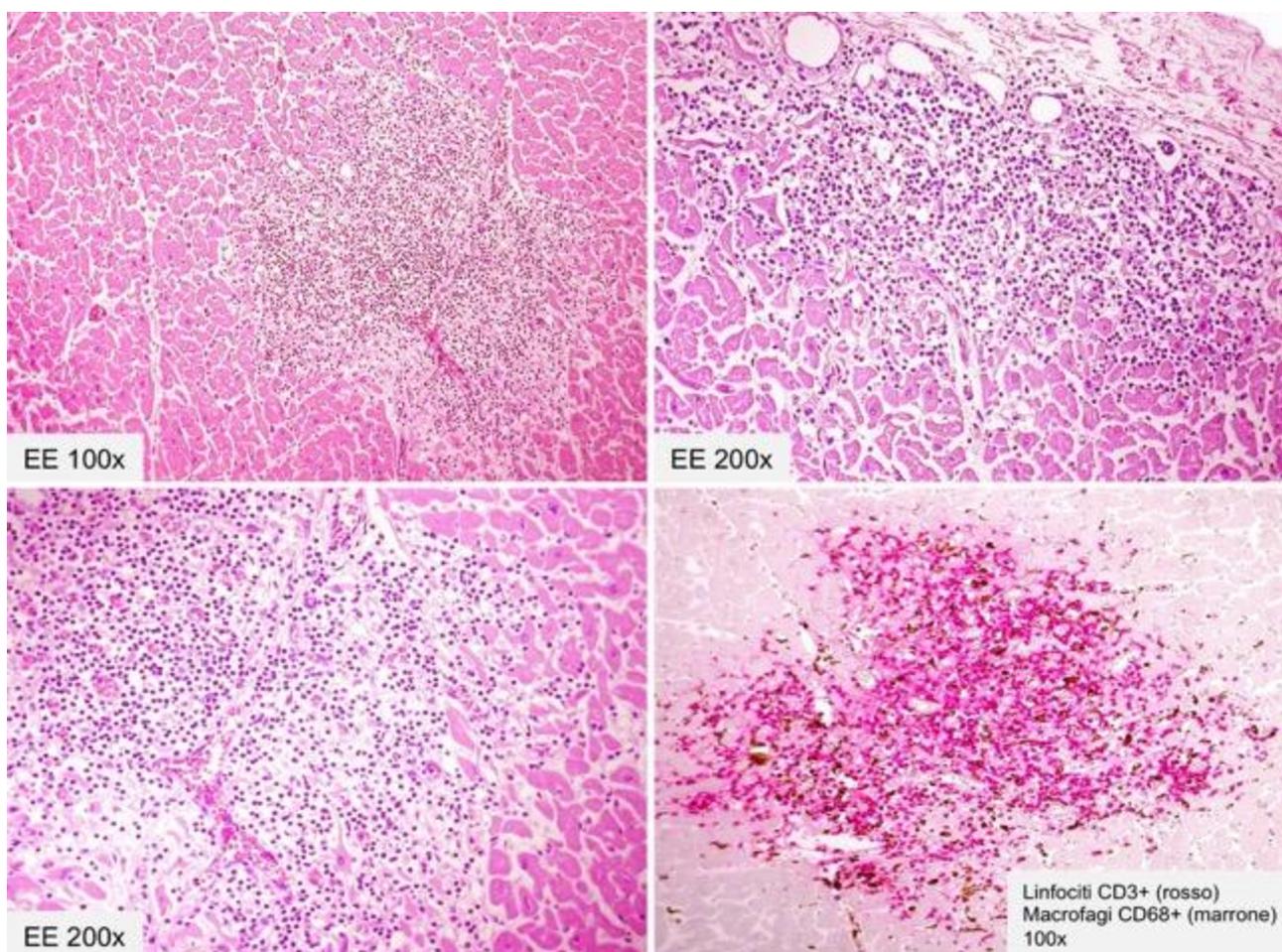
Media \pm DS: 32.2 \pm 14.8 anni; mediana: 29 anni; range: 9-55 anni

Malattie infiammatorie del miocardio: 8 (42.3%), (16.9% dei 48 casi complessivi valutati). Miocarditi: 7 (87.5%); Sarcoidosi: 1 (12.5%)

Caso 1. Donna di 28 anni deceduta per arresto cardiaco improvviso non testimoniato.

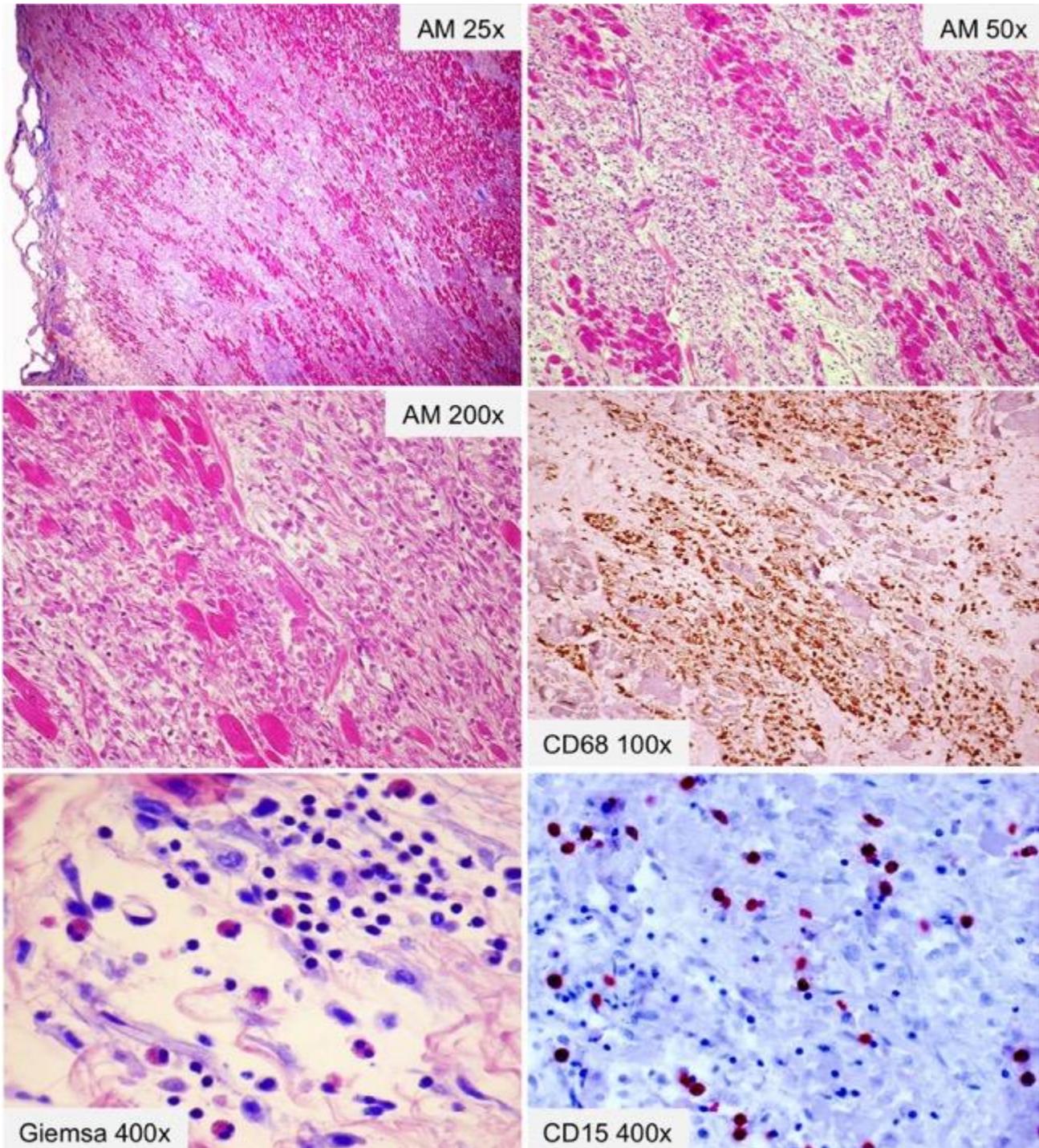
Causa del decesso: Miocardite linfocitaria multifocale con danno miocellulare multifocale.

Reperti istologici



Caso 2. Giovane uomo di 29 anni trovato deceduto nel letto dell'abitazione.
Causa del decesso. Miocardite eosinofila necrotizzante a distribuzione simil-infartuale.
Dati anamnestici. Bronchiolite asmatiforme in età infantile.

Reperti istologici



Caso 3. Uomo di 43 anni rinvenuto deceduto nel bagno del proprio appartamento.

Causa di morte. Sarcoidosi cardiaca in stato avanzato.

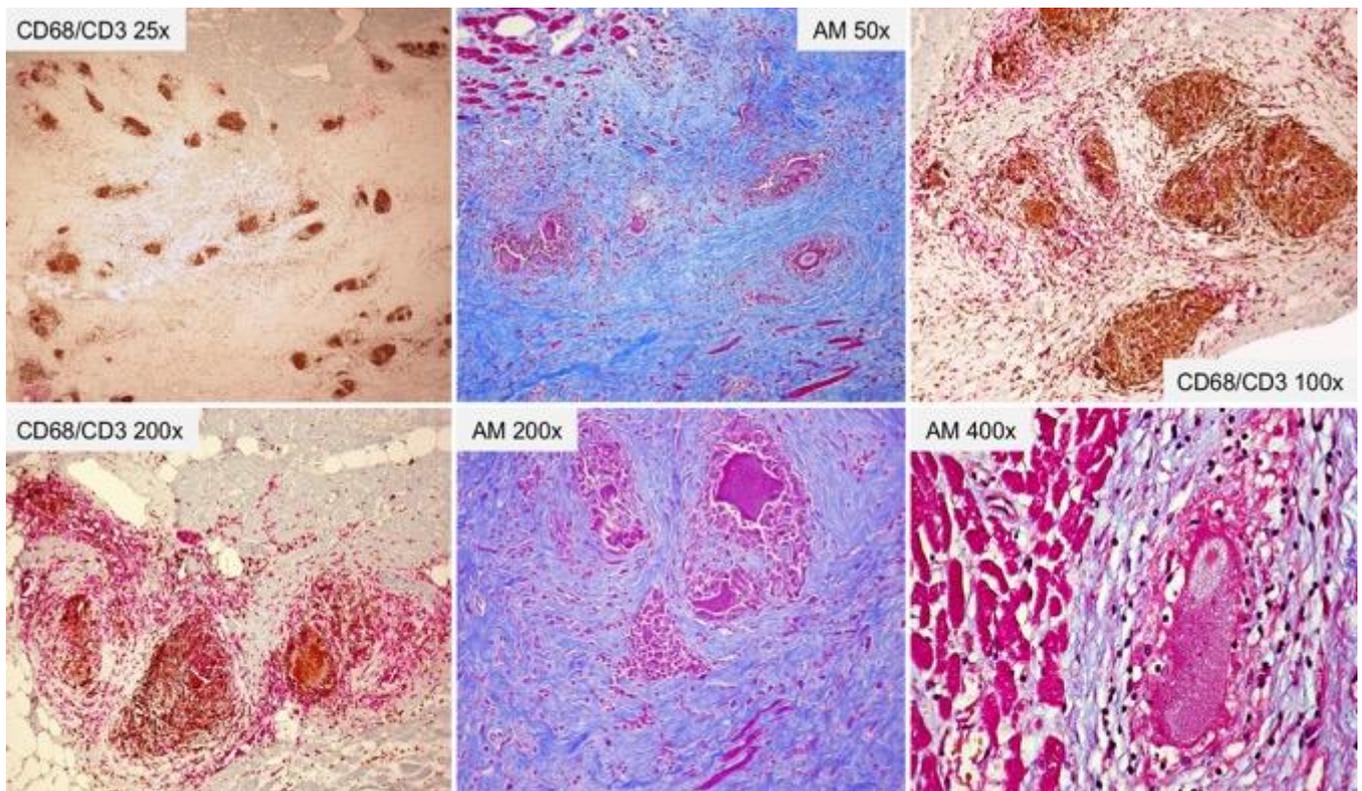
Altri reperti. Sarcoidosi linfonodale mediastinica e polmonare focale.

Dati anamnestici: Psoriasi in soggetto allergico.

Reperti macroscopici.



Reperti istologici



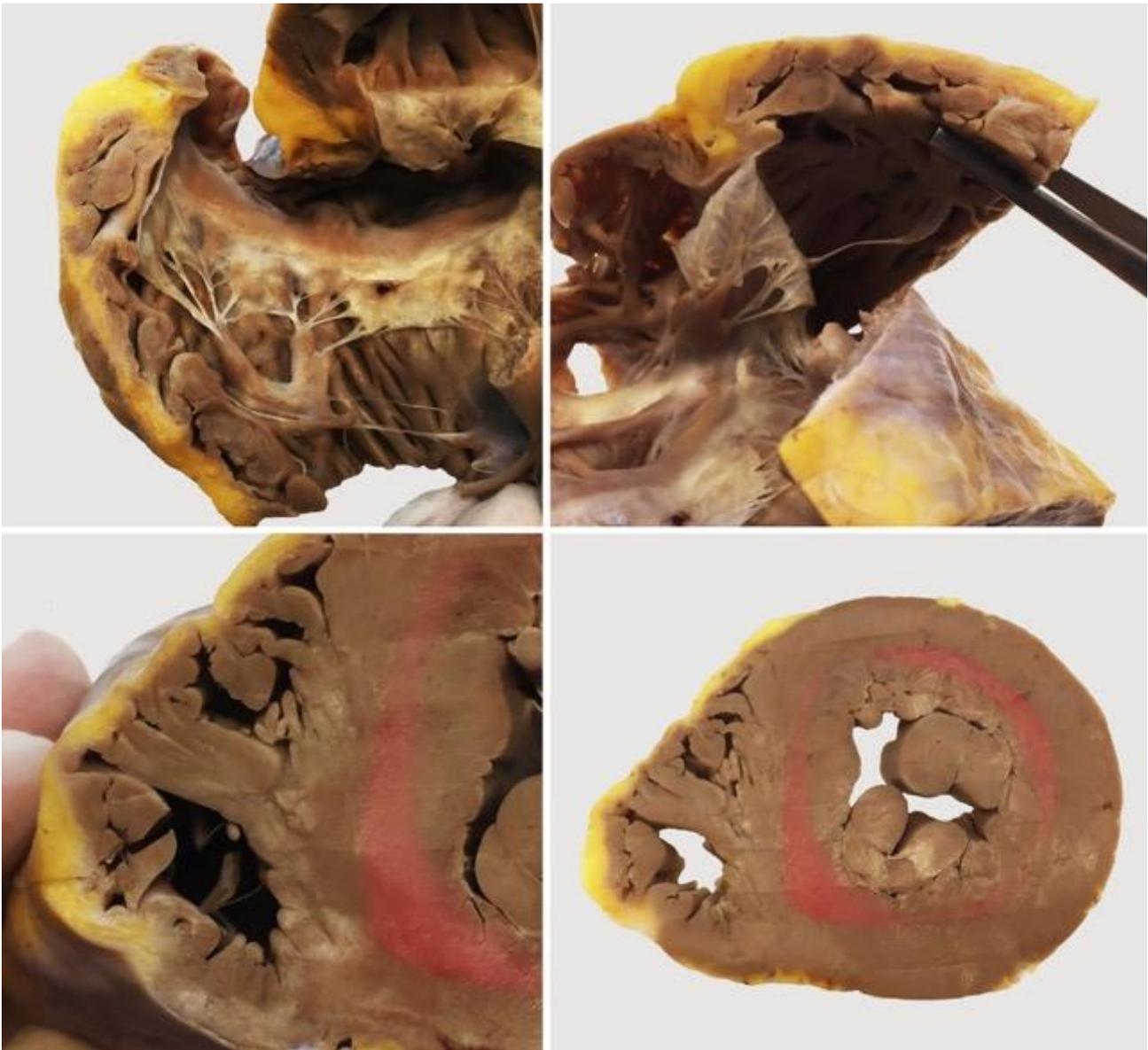
Cardiomiopatia aritmogena: 4 (21%) (8.4% dei 48 casi complessivi valutati)

Caso 1. Giovane uomo di 15 anni deceduto a seguito di perdita di coscienza dopo allenamento sportivo con rilievo di FV.

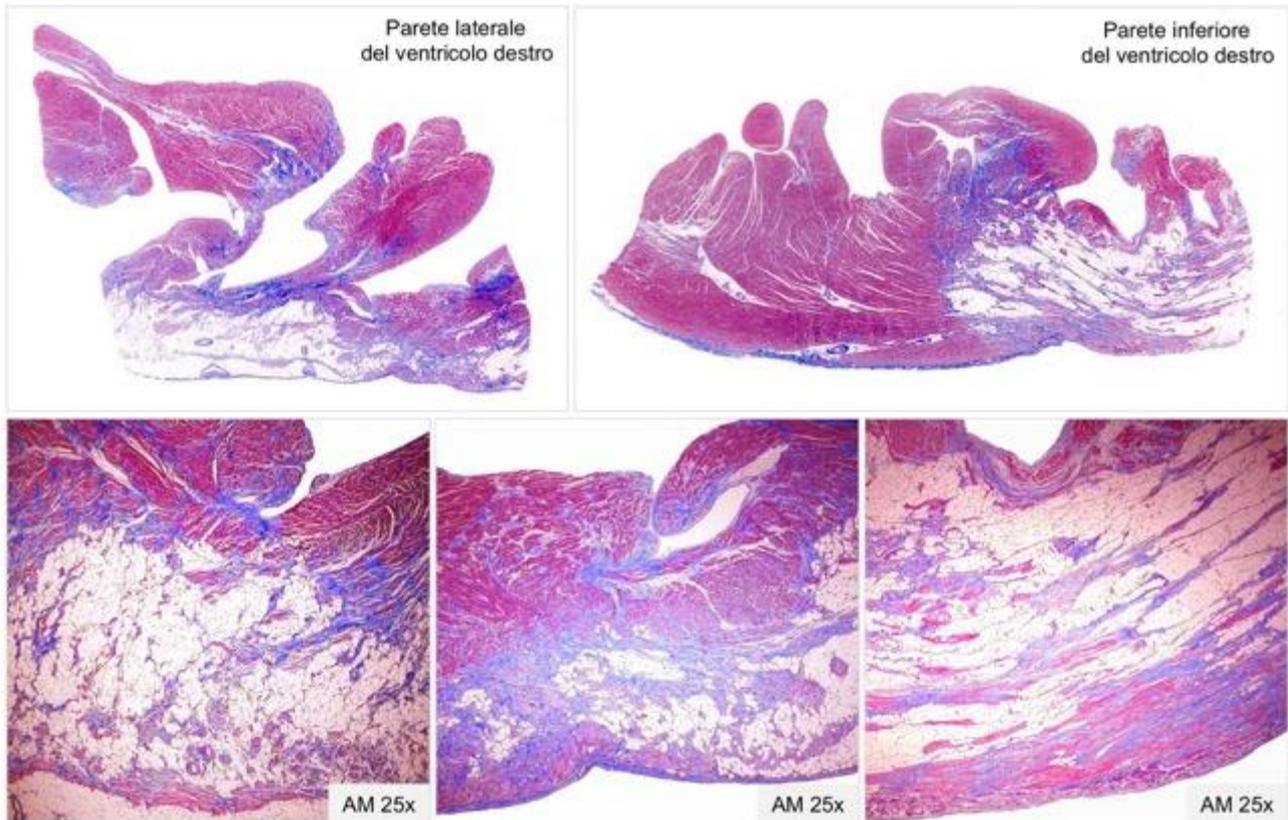
Causa del decesso. Cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro.

Analisi genetica. Mutazione causativa in eterozigosi c.1643 delG - p.Gly548Valfs562X nell'esone 7 del gene PKP2. La delezione della base causa *frameshift* e terminazione prematura della proteina. Mutazione riscontrata in eterozigosi anche nella madre, nello zio materno e in un fratello, attualmente in follow-up.

Reperti macroscopici. Estesa sostituzione/infiltrazione fibro-adiposa del miocardio ventricolare destro che, dal subepicardio, si estende ad interessare la regione mediomurale, fino a divenire transmurale in alcune aree raggiungendo il subendocardio. Non interessato il miocardio del ventricolo sinistro.



Reperti istologici

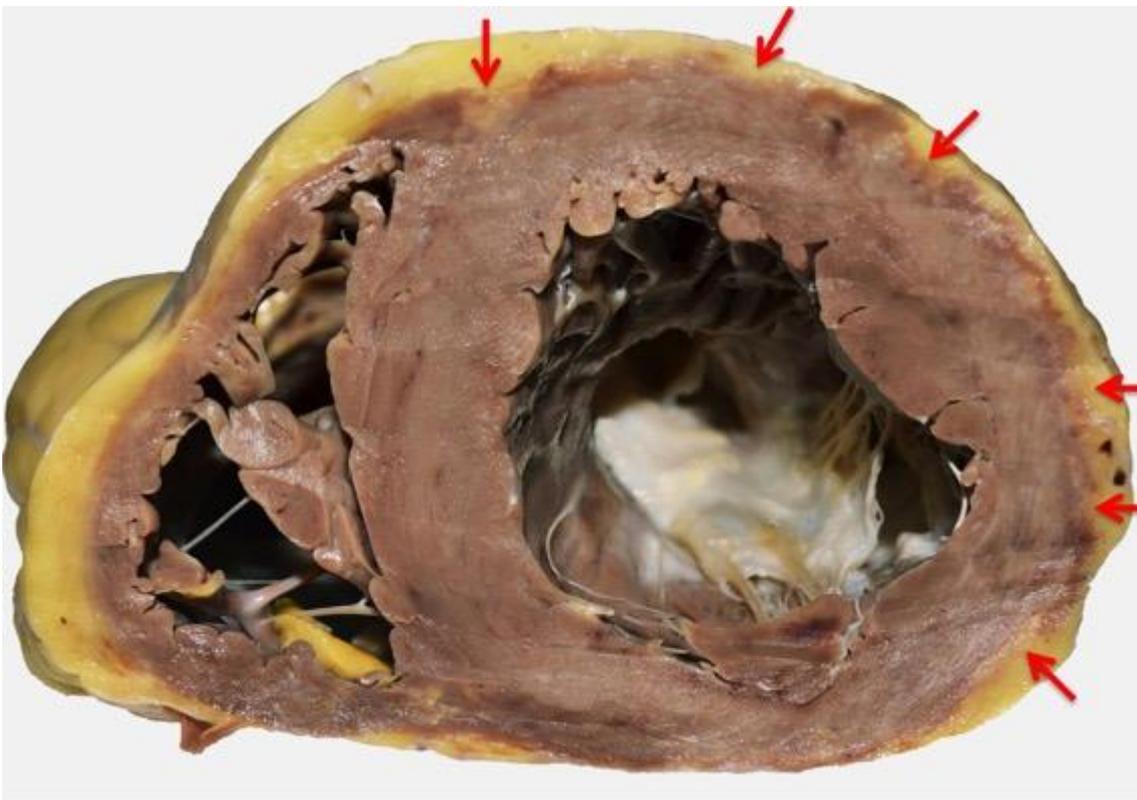


Caso 2. Uomo di 49 anni deceduto per arresto cardiaco durante attività sportiva in palestra.

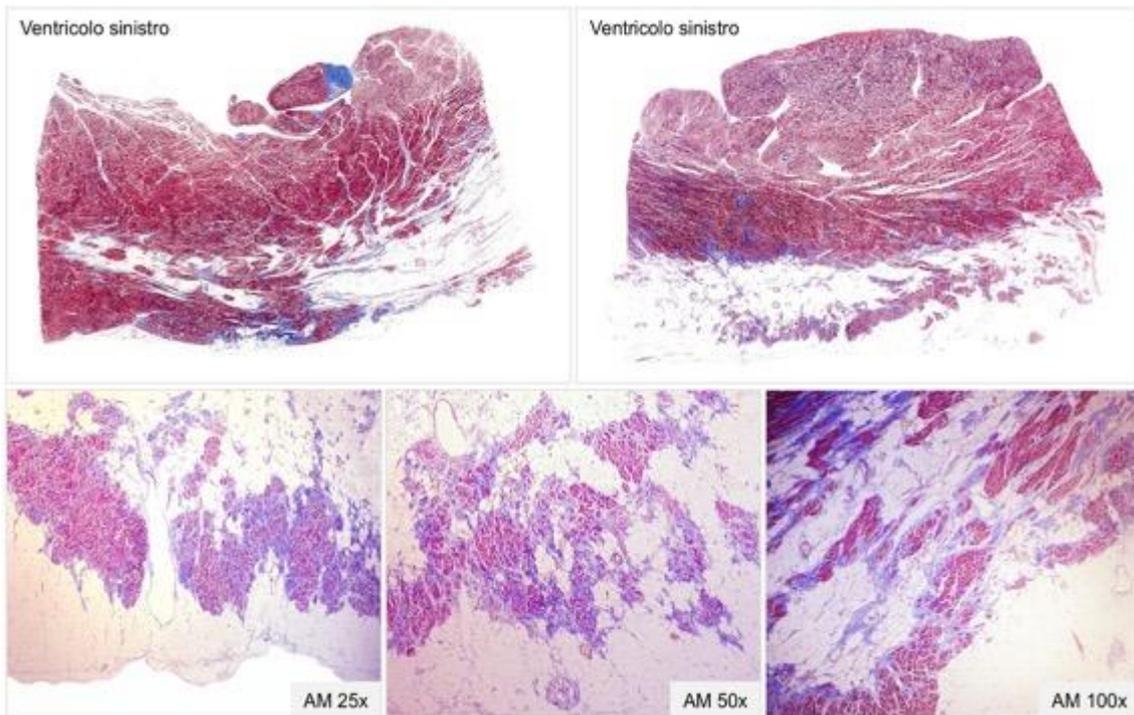
Causa del decesso. Cardiomiopatia aritmogena del ventricolo sinistro.

Analisi genetica. Due varianti in geni causativi di cardiomiopatia aritmogena. Una variante probabilmente patogena nel gene DSP (mutazione c.3533 T>G pLeu1178Arg nell'esone 12); una variante di incerto significato nel gene TMEM43 (mutazione c.1150C > G p.Leu384Val nell'esone 12).

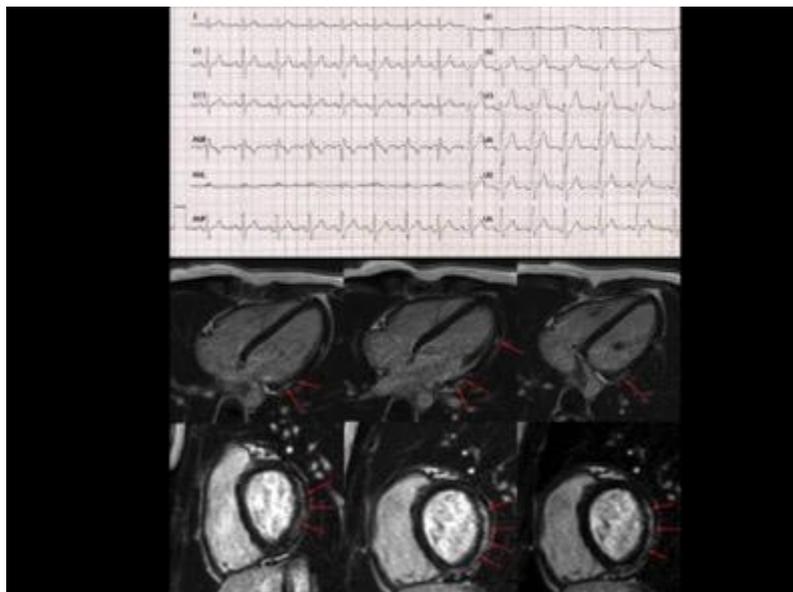
Reperti macroscopici. Fibro-adiposi e/o esclusiva fibrosi sostitutiva/infiltrativa del miocardio ventricolare destro a distribuzione multifocale nelle pareti anteriore, laterale e inferiore del ventricolo sinistro. Ventricolo destro non interessato.



Reperti istologici



Screening familiare. Il figlio del probando, un ragazzo di 19 anni asintomatico, è stato sottoposto a screening clinico (ECG, ecocardiogramma, ECG da sforzo, ECG-Holter 24 ore, risonanza magnetica cardiaca) e analisi genetica, che hanno condotto alla diagnosi di cardiomiopatia aritmogena del ventricolo sinistro. Il figlio è portatore della stessa mutazione nel gene della desmoplachina. Pur in assenza di chiare evidenze, si è concordato l'impianto di un defibrillatore sottocutaneo.



ECG: normale. RNM: Aree ipointense nelle immagini T2-pesate e LGE lineare nella regione subepicardica-midiomurale della parete infero-laterale del ventricolo sinistro. *Graziosi M et al. Cardiovascular Pathology 2020;44:107157.*

Cardiomiopatia ipertrofica: 2 (10.5%), (4.2% dei 48 casi complessivi valutati)

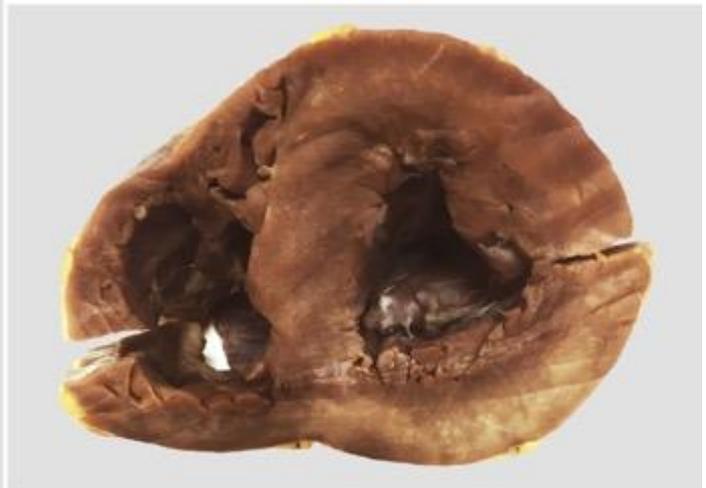
Caso. Giovane uomo di 21 anni deceduto dopo un malore durante una partita di calcio. Il paziente viene soccorso in campo e defibrillato: riscontro di ritmo defibrillabile seguito da PEA e asistolia.

Causa del decesso. Cardiomiopatia ipertrofica.

Analisi genetica. Variante probabilmente patogena c.4525G>T (p.Glu1509T) nell'esone 31 del gene MYH6 (catena pesante della miosina alfa).

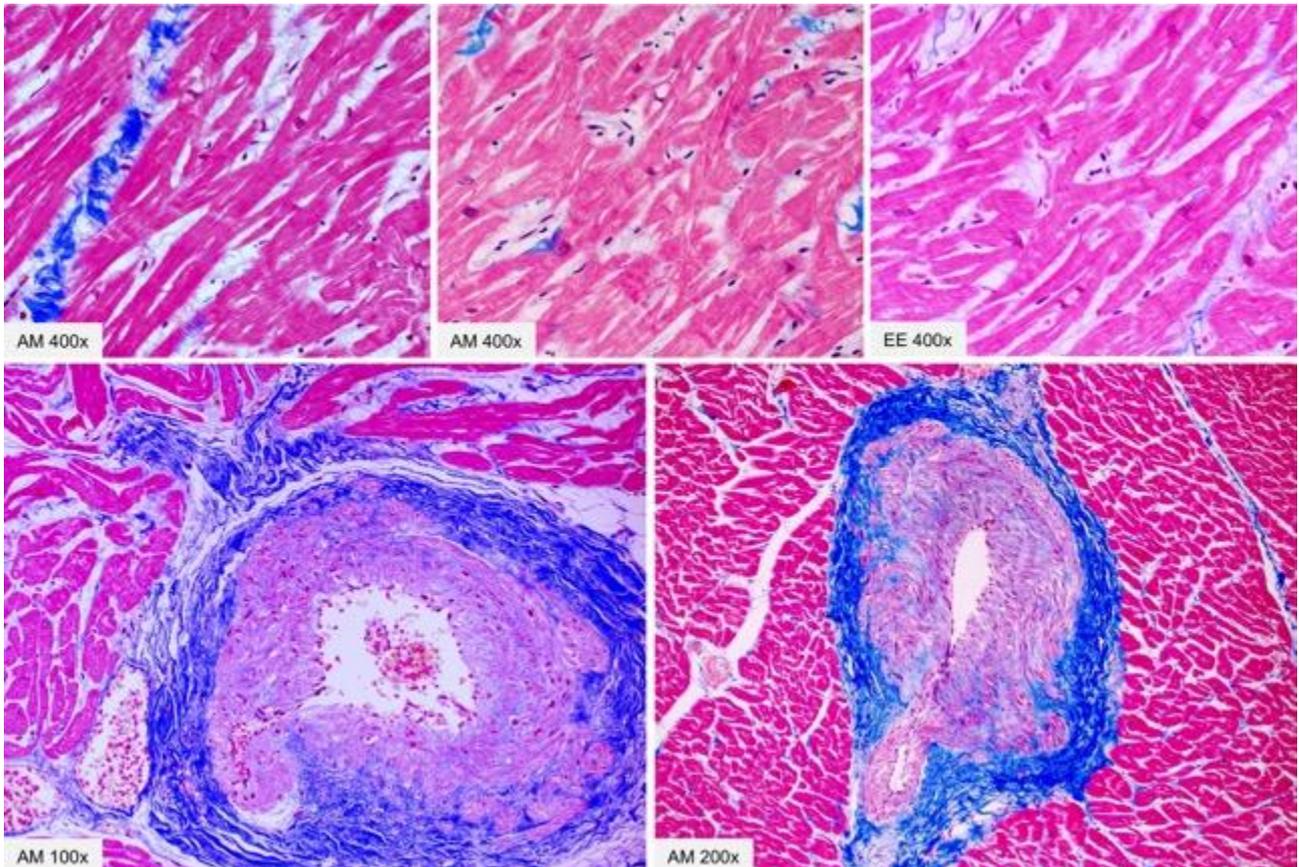
Dati anamnestici. Episodi lipotimici durante l'attività sportiva. Ultimi ecocardiogramma e Holter: normali.

Quadro macroscopico



Reperti istologici

Disarrangiamenti architetturali multipli del miocardio, sia a canestro che a spina di pesce;
Aumento delle dimensioni e/o franca ipertrofia delle miocellule nel ventricolo sinistro.
Alterazioni parietali delle arterie intramiocardiche con ipertrofia lieve-moderata della tonaca media e focale fibrosi.



Cardiomiopatia dilatativa; 4 (21%) (8.4% dei 48 casi complessivi valutati)

Caso. Donna di 39 anni deceduta improvvisamente durante il sonno.

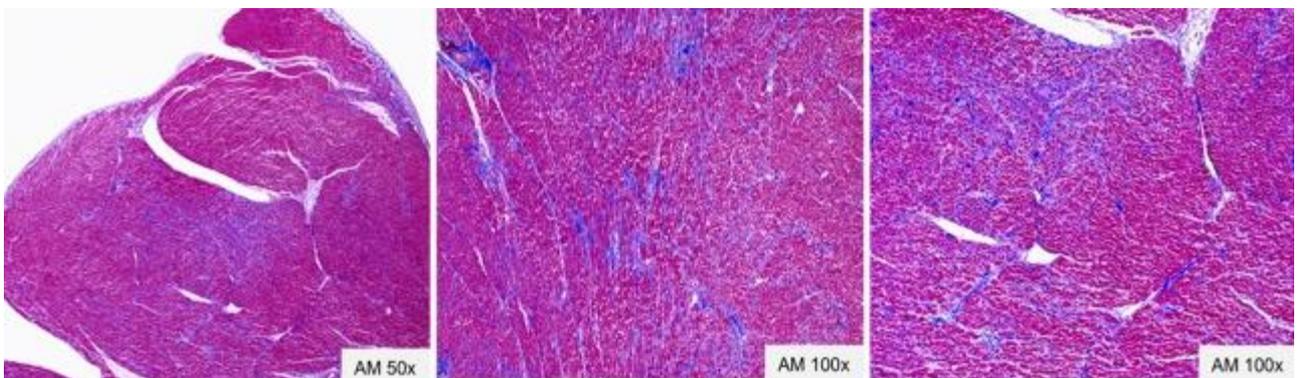
Causa del decesso. Cardiomiopatia dilatativa biventricolare con fibrosi miocardica interstiziale moderata a distribuzione multifocale/diffusa.

Analisi genetica. Variante di significato sconosciuto c.181A>G, p.Ile61Val in eterozigosi, nel gene KCNE1 (proteina regolatoria dei canali del potassio), non chiaramente associato al fenotipo. La variante è presente nel padre e fratello.

Reperti macroscopici



Reperti istologici



Amiloidosi cardiaca AL: 1 (5.2%) (2% dei 48 casi complessivi valutati)

Caso. Donna di 46 anni deceduta a seguito di improvviso malore durante una visita a conoscenti.

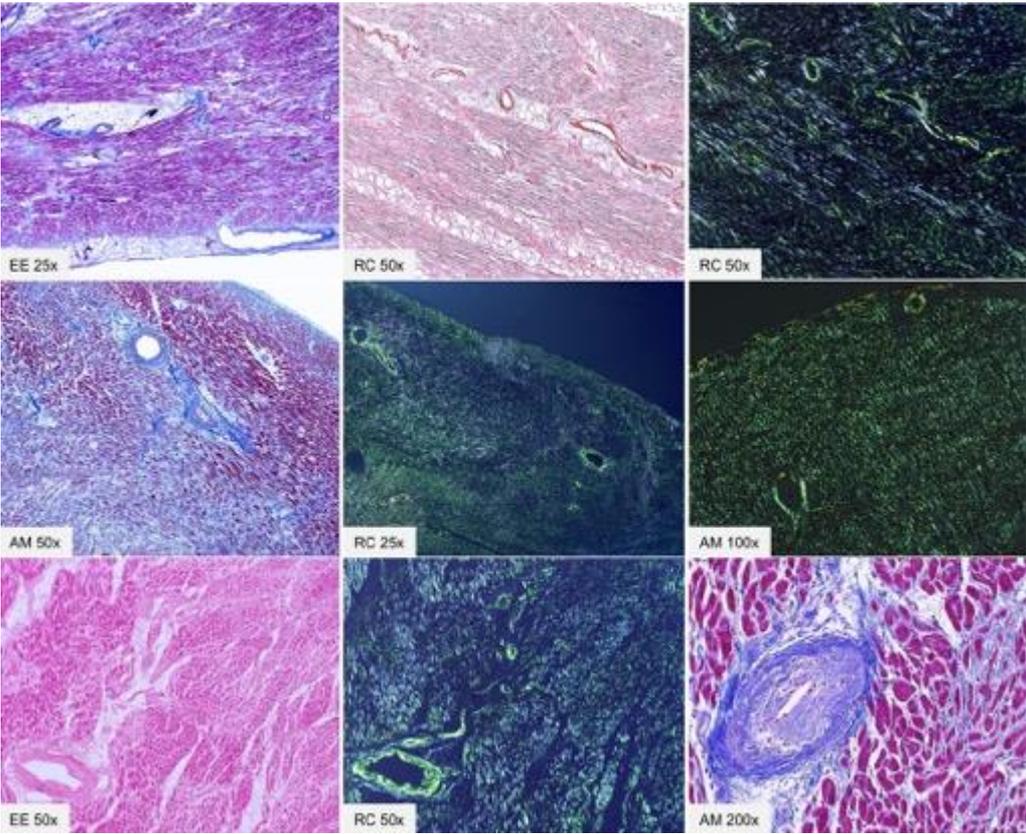
Causa del decesso. Severa cardiomiopatia amiloidotica in amilodosi sistemica AL misconosciuta.

Dati anamnestici. Affaticamento nei giorni precedenti il decesso durante lo svolgimento dei normali lavori domestici

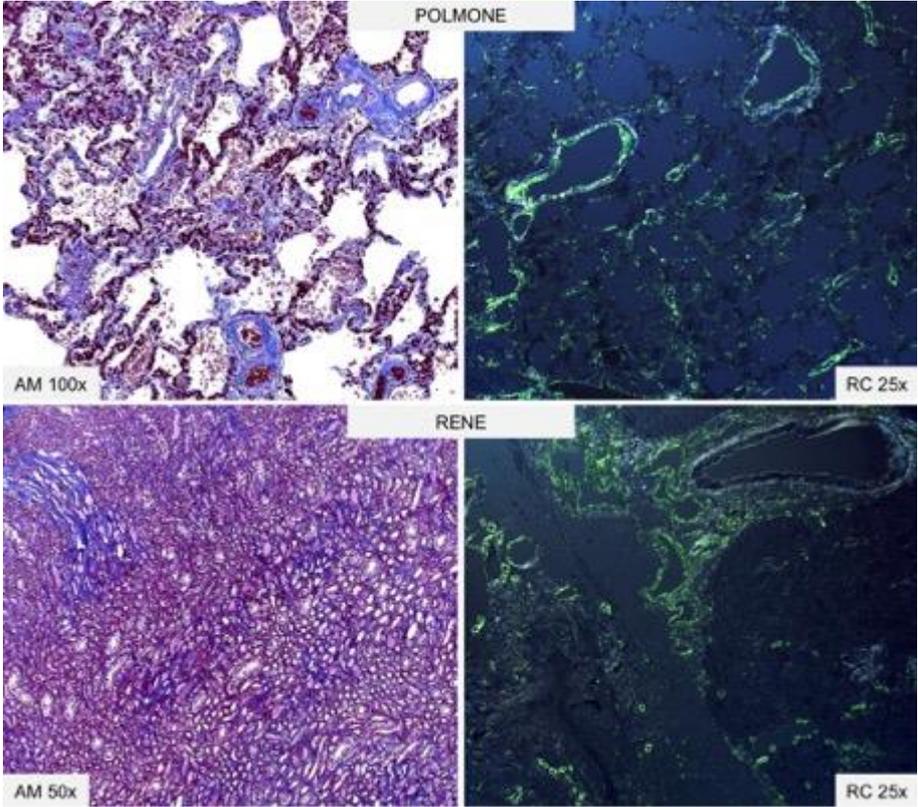
Reperti macroscopici



Reperti istologici cardiaci



Reperti istologici in altri organi



Sindrome di Brugada: 3 (6.2% dei 48 casi complessivi valutati)

Caso. Uomo di 44 anni deceduto mentre era alla guida della sua autovettura.

Dati anamnestici. Paziente affetto da sindrome di Brugada (diagnosi clinica elettrocardiografica), consumatore di cocaina.

Causa del decesso. Sindrome di Brugada associata a riscontro di dosi tossiche, potenzialmente letali, di cocaina al momento del decesso.

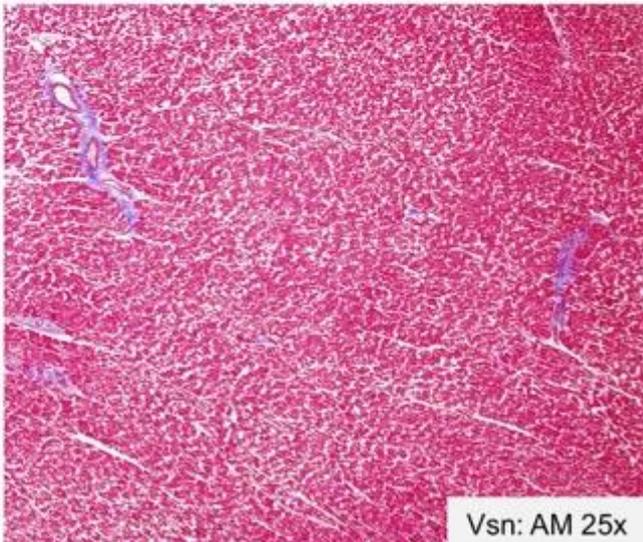
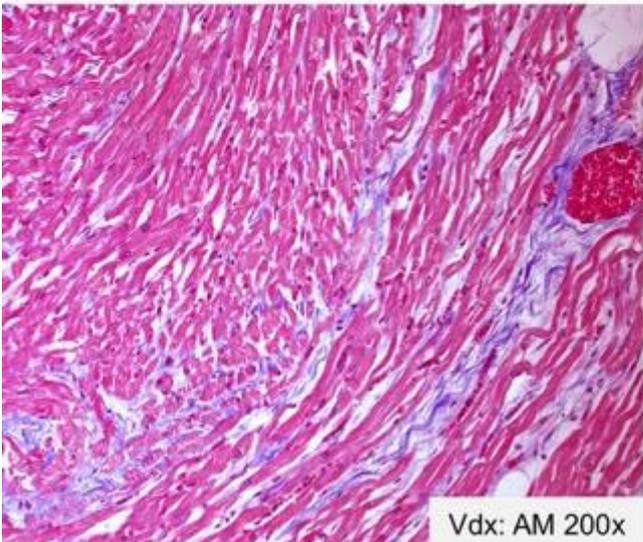
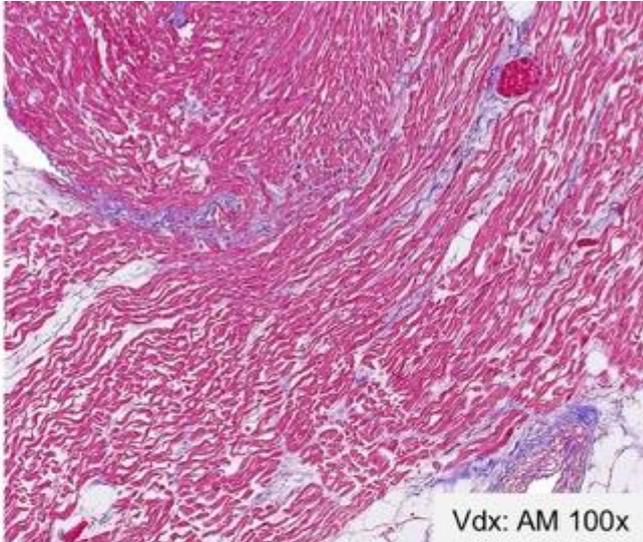
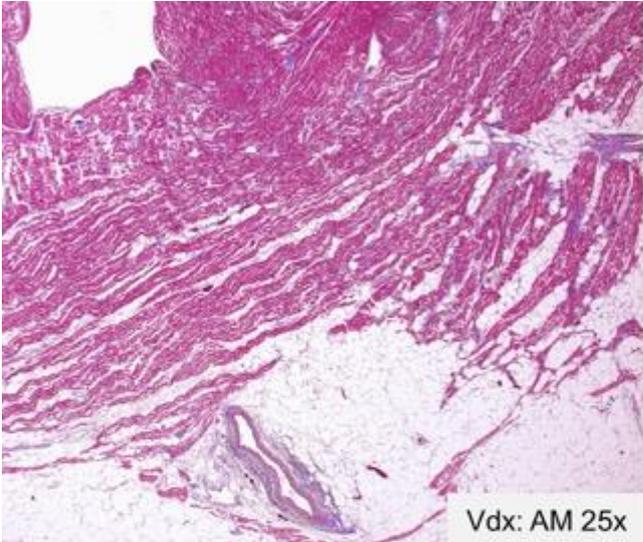
Quadro anatomo-patologico. Cardiopatia con dilatazione biventricolare, ectasia del cono di efflusso del ventricolo destro e fibro-adiposi moderata nel ventricolo destro, in assenza di significative alterazioni istologiche delle miocellule.

Analisi genetica. Variante probabilmente patogena c4208G>A p.Gly1403Glu nell'esone 24 del gene SCN5A.

Reperti macroscopici



Reperti istologici



Cuori strutturalmente normali: 7 (14.5%).

Caso n. 1. Morte improvvisa in giovane donna di 22 anni trovata deceduta a letto dalla madre.

Anamnesi patologica remota e recente: negative.

Causa del decesso: aritmia

Esame anatomo-patologico. Cuore strutturalmente normale per peso, forma, spessori parietali e reperti istologici miocardici e coronarici con singolo focolaio di miocardite linfocitaria nel ventricolo destro.

Analisi genetica. Variante in eterozigosi c184C>A p.Gln62Lys nell'esone 1 del gene PKP2 (Plakofillina-2, proteina desmosomiale; gene associato a fenotipo aritmico), di incerto significato in ClinVar, probabilmente benigna in Varsome.

Reperti macroscopici



Caso n. 2. Giovane uomo di 32 anni trovato deceduto nel letto dell'abitazione.

Anamnesi. Negativa.

Causa del decesso. Intossicazione acuta da eroina.

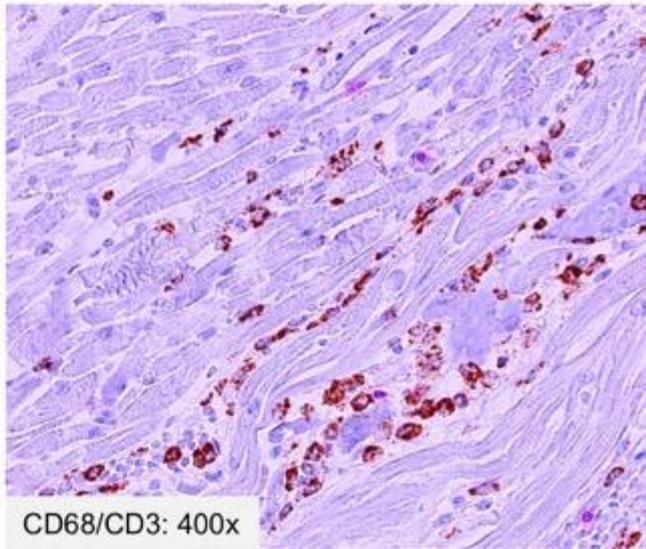
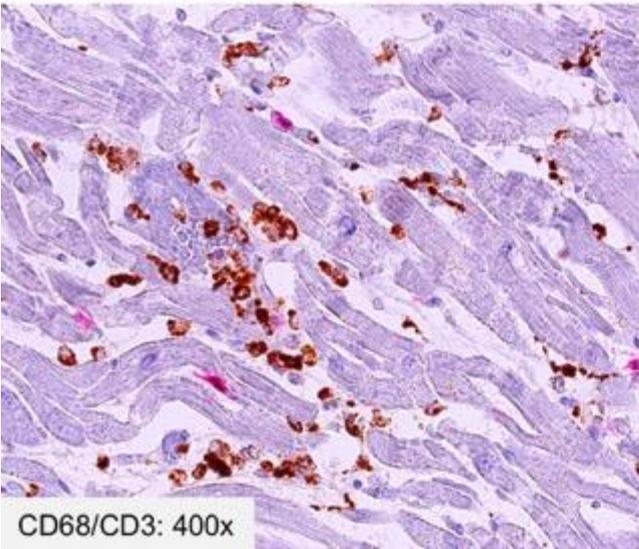
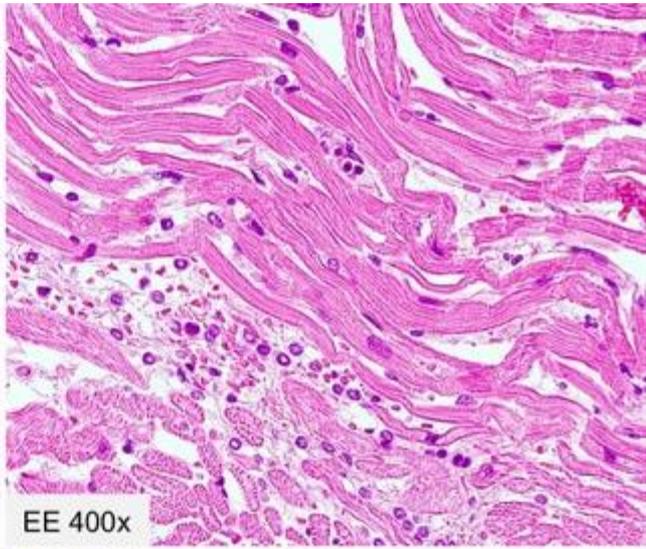
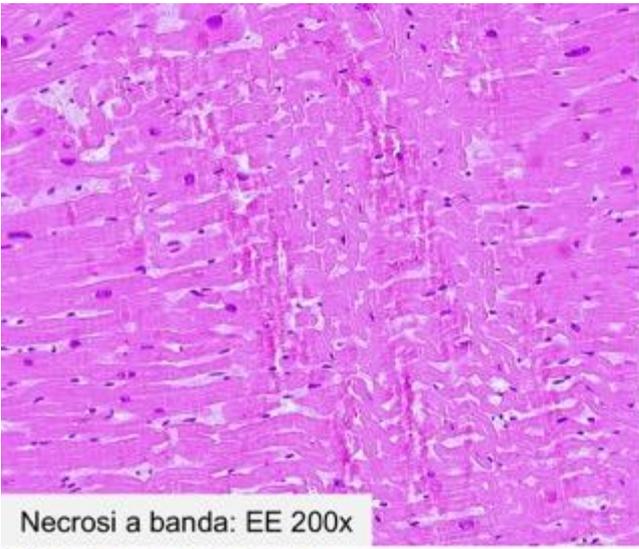
Esame tossicologico. Morfina nel range della letalità (0.556 µg/ml di morfina libera nel sangue centrale).

Esame anatomico-patologico. Cuore strutturalmente normale con riscontro di miocardite tossica.

Reperti macroscopici



Reperti istologici



Patologia valvolare: 1 (2%)

Caso. Giovane uomo di 19 anni, rinvenuto in arresto cardiaco nel proprio domicilio.

Causa del decesso. Morte cardiaca improvvisa di tipo aritmico in severo prolasso della valvola mitrale con rottura delle corde tendinee.

Altri reperti anatomico-patologici. Cuore di peso aumentato con lieve ipertrofia del setto, lieve fibrosi subendocardica, decorso intramiocardico del ramo interventricolare anteriore (lunghezza: 2 cm; spessore del ponte miocardico: 2.8 mm).

Anamnesi patologica. Negativa.

Reperti macroscopici



Legenda figure

AM: Tricromica di Azan Mallory

EE: Ematossilina-eosina

Colorazioni immunoistochimiche

CD3: linfociti T

CD68: macrofagi

CD15: granulociti eosinofili

Doppia colorazione immunoistochimica: CD68 (in marrone) / CD3 (in rosso)