

COVID-19: Anatomia Patologica Clinica

01-RISCONTRO AUTOPTICO IN DECEDUTI PER SOSPETTO COVID-19

Ai colleghi che operano sul territorio e non solo

Il riscontro autoptico consente di ricostruire la storia naturale di una malattia, identificare i meccanismi patogenetici che ne regolano l'evoluzione e risalire alle possibili cause di un decesso. Tutti questi aspetti costituiscono "informazioni preziose" per chi opera nella Medicina Generale e possono orientare per un intervento terapeutico consapevole ed efficace.

Le autopsie convenzionali sono un lavoro scrupoloso. Durante una pandemia, le precauzioni di biosicurezza da adottare le rendono ancora più complesse perché a causa dell'elevato rischio di contagio negli ospedali e nell'*immaginario generale*, qualsiasi cadavere è considerato come una "potenziale fonte di infezione". La "furia pandemica" e le innumerevoli restrizioni che ha comportato, hanno reso le procedure per reperire campioni di tessuti una impresa ai limiti dell'impossibile.

I sistemi sanitari, i cui vertici erano stati allertati da mesi dalle "intelligence epidemiologiche Osint" (*Open Source intelligence* raccolta e comunicazione delle informazioni mediante l'analisi di fonti aperte) non hanno attivato nessuna delle precauzioni consigliate e sono stati drammaticamente sopraffatti. Ancora oggi, dopo tre mesi, siamo in affanno. Scarseggiano i presidi indispensabili per fronteggiare la pandemia dai reagenti di laboratorio per la diagnostica (tamponi) fino ai dispositivi elementari di protezione individuale per medici e infermieri che ancora oggi corrono enormi rischi per la loro salute e quella dei pazienti. A questi "pazienti", terrorizzati e il più delle volte non coscienti, mantenuti in vita da un ventilatore meccanico, un medico avrebbe dovuto chiedere il loro *consenso informato* o quello dei loro congiunti alla donazione del loro corpo per la ricerca, una richiesta emotivamente difficile per qualsiasi medico.

Se in piena pandemia è decisamente un momento poco opportuno per concentrarsi sul prelievo di tessuti, per il patologo in particolare è questo l'azimut il "momento della verità" in cui è possibile, attraverso l'autopsia avere informazioni preziose per capire che cosa è successo, cosa sta veramente accadendo. Il riscontro autoptico consente di comprendere le possibili cause (errori ed omissioni) che hanno portato ad un decesso. Tutti questi, che costituiscono informazioni preziose per un intervento terapeutico consapevole.

Il team di Marisa Dolhnikoff dell'Università di San Paolo ha by-passato le difficoltà di eseguire biopsie convenzionali effettuando *autopsie minimamente invasive*, attraverso agobiopsie guidate da ultrasuoni seguendo una procedura standard che tuttavia prevede una suite di autopsia a pressione negativa con attigua stanza di isolamento, utilizzando un equipaggiamento protettivo completo.

Il 1° aprile, il Ministero della Salute Italiano **riconoscendo che** *Nei pazienti che muoiono con infezione da SARS-CoV-2, le autopsie possono confermare i risultati di laboratorio e radiologici e contribuire ad una diagnosi accurata e ad una migliore comprensione dei meccanismi della malattia"* **rimarcando in pieno burocratese che** *per l'intero periodo della fase di emergenza, le autopsie o gli studi diagnostici post mortem non devono essere eseguiti in casi conclamati di COVID-19. In particolare dichiara che* *L'autorità giudiziaria valuterà la possibilità di limitare la valutazione alla sola ispezione esterna del cadavere, in tutti i casi in cui un'autopsia non è strettamente necessaria per motivi forensi. E come Ponzio Pilato afferma che* *I dipartimenti sanitari di ciascuna regione forniranno i criteri per limitare l'esecuzione delle autopsie a quelle volte a diagnosticare la causa della morte, limitando rigorosamente quelle a scopo di studio. È necessario effettuare un'attenta valutazione preventiva dei rischi e dei benefici associati a qualsiasi richiesta di autopsia. Concludendo tuttavia che* *Le autopsie e qualsiasi attività diagnostica post mortem possono essere eseguite solo in locali settoriali che garantiscono adeguate condizioni di sicurezza e il personale deve indossare dispositivi di protezione individuale, inclusi respiratori (FFP2 o superiore) e dispositivi di protezione per gli occhi e le mucose facciali (visiera o viso scudo) e mani (guanti resistenti al taglio interposti tra un doppio paio di guanti per autopsia). Qualsiasi procedura che può produrre aerosol dovrebbe essere evitata. In sintesi* *Le autopsie dovrebbero essere limitate a casi ben motivati ed eseguite in conformità alle norme di biosicurezza.*

Dopo le prime preziose e fondamentali osservazioni di Andrea Riannetti e Aurelio Sonzogni di Bergamo e le 38 autopsie eseguite dai patologi degli ospedali della Lombardia (Milano-Bergamo. manuela.nebulosi@unimi.it), i principali laboratori di Anatomia Patologica Italiani hanno redatto le procedure per la "Gestione del cadavere con sospetto, probabile o confermato infezione da COVID respiratorio, raccomandazioni per il personale potenzialmente esposto a materiale proveniente da cadaveri, compresi fluidi corporei, nelle strutture dell'obitorio e durante pratica dell'autopsia." Nel frattempo, il Board SIAPC e la Società Scientifica di Medicina Forense dell'Ospedale del Sistema Sanitario Nazionale (COMLAS) hanno prodotto un documento congiunto, disponibile sul sito web SIAPEC su come gestire le autopsie durante una pandemia.

Queste raccomandazioni, insieme a quelle consolidate dai patologi della Repubblica popolare Cinese e del Royal College of Pathologists inglese, costituiscono una solida base per pianificare in maniera sicura una indagine autoptica. In queste ore, man mano che (finalmente) sono analizzabili i risultati autoptici stiamo cominciando a ricostruire cosa è realmente successo durante i cento giorni della pandemia negli organismi dei deceduti ed in particolare, tutto quello che andava (o non andava) fatto nella gestione terapeutica.

Sta emergendo anche la necessità di organizzare un "repository internazionale" che riporti metadati per la definizione di linee guida concordate per la dissezione, per il campionamento autoptico ed un efficiente sistema per la registrazione dei risultati consultabile e a disposizione di tutti. Attualmente si sono proposti la RWTH Aachen University in Germania e la Visiopharm a Westminster in Colorado. Intanto patologi da tutto il mondo stanno aderendo entusiasti al progetto, consapevoli tuttavia che attivare un repository mondiale richiederà mesi di duro lavoro per essere completato e facilmente consultabile.

Le autopsie danno un altro sguardo, unico e particolare della malattia, superiore a quello che si può ottenere da una batteria di esami fisici, test di laboratorio di routine, persino le scansioni CT ad alta risoluzione. Nessuno di loro si avvicina alla risoluzione che si può ottenere da un'autopsia.

In conclusione: Se in condizioni normali, l'autopsia risponde a molte delle domande senza risposta che ci poniamo su un nostro paziente deceduto, per una "nuova malattia" emergente come il COVID-19, anche i risultati di "una sola" autopsia diventano di fondamentale importanza per tutta l'umanità. Parola di morfologo.

RIFERIMENTI

- Fineschi V et al. *Pathologica*. 2020 Mar 26. *Management of the corpse with suspect, probable or confirmed COVID-19 respiratory infection - Italian interim recommendations for personnel potentially exposed to material from corpses, including body fluids, in morgue structures and during autopsy practice.* . *Pathologica*. 2020 Mar 26.
- Fa Yi Xue Za Zhi. 2020 Feb;36(1):6-5. Epub 2020 Feb 25. *Guide to the Forensic Pathology Practice on Death Cases Related to Corona Virus Disease 2019 (COVID-19)* Faculty of Forensic Medicine, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen. -Hanley B et al. *Autopsy in suspected COVID-19 cases.* *J Clin Pathol*. 2020 May;73(5):239-242. 2020 Mar 20.
- Hanley B et al. *Autopsy in suspected COVID-19 cases.* *J Clin Pathol*. 2020 May;73(5):239-242. 2020 Mar 20 -Li H et al. *SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses.* *Lancet*. 2020 Apr 17.
- Ledford H. *Autopsy slowdown hinders quest to determine how coronavirus kills.* *Nature*. 2020 May 7. doi: 10.1038/d41586-020-01355-z.
- Indicazioni emergenziali connesse ad epidemia COVID-19 riguardanti il settore funebre, cimiteriale e di cremazione. Ministero della Salute- Direzione Generale Della Prevenzione Sanitaria. Ufficio 4 - 0011285-Accessed 8 April 2020
- WHO (2020) *Infection prevention and control for the safe management of a dead body in the context of COVID-19* Accessed 8 April 2020
- *Provisional Guidelines on Autopsy Practice for Deaths Associated With COVID-19* . society of Pathological Doctors Chinese Medical doctors association

A CHI LEGGE:

Al momento attuale (marzo 2020) non è disponibile una raccolta sistematica ed esaustiva delle osservazioni anatomo patologiche ottenibili per l'esiguo numero di esami autoptici corredati a dati anamnestici essenziali (comorbidità, cronologia dell'esordio della sintomatologia, terapie effettuate, sistema di supporto di O2, passaggio in terapia intensiva etc). Sono consultabili un centinaio di lavori purtroppo la maggior parte in cinese mandarino con abstract in inglese molto scarni. Tuttavia le osservazioni ricavabili dalla loro traduzione (per via automatica) sono sostanzialmente omogenee e comparabili con omologhi lavori in lingua inglese.

Per l'acquisizione dei risultati autoptici ho utilizzato tre database, PubMed, Scopus e Web of Science impostati per una ricerca senza limiti di tempo che includesse anche i documenti più "datati" con le parole chiave: coronavirus, SARS-CoV-2, SARS, MERS, COVID-19 associate ad autopsia. Per avere una visione

quanto più completa l'acquisizione dei dati è stata estesa anche alle pretese utilizzando il server medRxiv (<https://www.medrxiv.org/>), con gli stessi criteri sopra indicati. Gli articoli selezionati sono stati letti interamente per evidenziare le differenze autoptiche in relazione al tipo e ceppo di coronavirus. Per le correlazioni con la clinica ho utilizzato esclusivamente PubMed.

Per questa rassegna, che sarà periodicamente aggiornata grazie alla continua acquisizioni di nuovi lavori ho riportato in particolare le osservazioni in microscopia ottica, immunostochimica e microscopia elettronica a trasmissione (TEM) ottenute da autopsie convenzionali, correlandole, quando disponibili, anche a dati anamnestici e clinici essenziali.

In particolare ho sintetizzato e riportato tutte le osservazioni ricorrenti "simili e/o comparabili", ed ho cercato di evidenziare quelle "originali". Ho inoltre riportato anche i dati ottenuti da autopsie mini-invasive ed in particolare le osservazioni ottenute da materiale bioptico ottenuto durante il decorso della patologia. Questo è un "rough draft" (brogliaccio) mi scuso per gli innumerevoli errori di battitura, per la forma italiana approssimata, e per errori ed imprecisioni che provvederò a eliminare e chiarire nei prossimi aggiornamenti periodici.

Mistakes are proof that you are trying....

Riferimenti principali

- Ahmet Kursat Azkur et al. **Immune Response to SARS-CoV-2 and Mechanisms of Immunopathological Changes in COVID-19.** Allergy 2020 May 12.
- Ackerman M et al. **Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19.** NEJM 21 may 2020
- Barton LM et al. **COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA.** Am J Clin Pathol. 2020 Apr 10.
- Buja LM et al. **The Emerging Spectrum of Cardiopulmonary Pathology of the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Report of 3 Autopsies From Houston, Texas, and Review of Autopsy Findings From Other United States Cities** Cardiovasc Pathol. 2020 May 7;48:107233.
- Carsana L et al. **Pulmonary post-mortem findings in a large series of COVID-19 cases from Northern Italy** MedRxiv April 22,2020
- Chen F et al. **Rising Concern on Damaged Testis of COVID-19 Patients.** Urology. 2020 Apr 25..
- Ding Yanqing et al. **Analysis of coronavirus disease-19 (COVID-19) based on SARS autopsy** Chin J Pathol, 2020,49(04): 291-293
- Farkash EA et al. **Ultrastructural Evidence for Direct Renal Infection with SARS-CoV-2.** J Am Soc Nephrol. 2020 May 5.
- Goad J et al. **Female reproductive tract has low concentration of SARS-CoV2 receptors. Preprint.** bioRxiv. 2020;2020.06.20.163097. Published 2020 Jun 22. doi:10.1101/2020.06.20.163097
- Hanley B et al. **Autopsy in suspected COVID-19 cases.** J Clin Pathol. 2020 May;73(5):239-242.
- Huang C. et al. **Clinical features of patient infected with 2019 nvel coronavirus in Whuam, China** lancet 2020, 395: 497-506
- Iwasawa T et al **Ultra-high-resolution computed tomography can demonstrate alveolar collapse in novel**
- Jing Y et al. **Potential influence of COVID-19/ACE2 on the female reproductive system.** Mol Hum Reprod.2020 May 4.
- LX I et al. **Pathological changes of the spleen in ten patients with new coronavirus infection by minimally invasive autopsies.** Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 2020 Apr 27;49(0):E014. (MILZA)
- Lukassen S et al **SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells.** EMBO J. 2020 Apr 4:e105114.
- Liu C et al **Preliminary study of the relationship between novel coronavirus pneumonia and liver function damage: a multicenter study.** Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi. 2020 Feb 20;28(2):148-152
- Liu F et al. **ACE2 Expression in Pancreas May Cause Pancreatic Damage After SARS-CoV-2 Infection.** Clin Gastroenterol Hepatol. 2020 Apr 22. pii: S1542-3565(20)30537-1.
- Liu Q et al. **Gross examination report of a COVID-19 death autopsy.** Fa Yi Xue Za Zhi. 2020 Feb;36(1):21-23.

- Li H et al. **SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses**. Lancet. 2020 May 9;395(10235):1517-1520.
- Menter T ET AL. **Post-mortem examination of COVID19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings of lungs and other organs suggesting vascular dysfunction**. Histopathology. 2020 May 4.
- Park M **Macrophages: A Trojan Horse in COVID-19?** . Nat Rev Immunol . 2020 Apr 17;1.)
- Parisa Karami et al. **Mortality of a pregnant patient diagnosed with COVID-19: A case report with clinical, radiological, and histopathological findings** Travel Med Infect Dis. 2020 Apr 11 : 101665.
- Pernazza A et al.**Early histologic findings of pulmonary SARS-CoV-2 infection detected in a surgical specimen**. Brief Report Published: 30 April 2020Virchows Archiv (2020)
- Takuya Adachiet al. **Clinicopathologic and Immunohistochemical Findings From Autopsy of Patient With COVID-19** .Emerg Infect Dis . 2020 May 15;26(9).
- Sharon E.Fox et al **Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans**. The lancet . Respiratory Medicine on line 27 may.2020
- Sims AC et al.**Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of human ciliated airway epithelia: role of ciliated cells in viral spread in the conducting airways of the lungs**. J Virol. 2005 Dec;79(24):15511-24.
- South AM et al.**ACE2, and the cardiovascular consequences**. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2020 May 1;318(5):H1084-H1090.
- Stopsack KH et al. **TMPRSS2 and COVID-19: Serendipity or Opportunity for Intervention?** Cancer Discov. 2020 Apr 10.
- Staico MF et al. **The Kidney in COVID-19: Protagonist or Figurant?** Panminerva Med. 2020 May 20.
- Takuya Adachiet al. **Clinicopathologic and Immunohistochemical Findings From Autopsy of Patient With COVID-19** .Emerg Infect Dis . 2020 May 15;26(9).
- Varga Z. et al **Endothelial Cell Infection and Endotheliitis in COVID-19** 2020 May 2;395(10234):1417-1418
- Wang Z, et al. **scRNA-seq Profiling of Human Testes Reveals the Presence of the ACE2 Receptor, A Target for SARS-CoV-2 Infection in Spermatogonia, Leydig and Sertoli Cells**. Cells. 2020 Apr 9;9(4).
- Wang HJ et al. **Review and Prospect of Pathological Features of Corona Virus Disease**.Fa Yi Xue Za Zhi. 2020 Feb;36(1):16-20
- Wichmann D et al **Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19: a prospective cohort study**. Ann Intern Med. 2020;Epub ahead of print.
- Wang Z, et al. **scRNA-seq Profiling of Human Testes Reveals the Presence of the ACE2 Receptor, A Target for SARS-CoV-2 Infection in Spermatogonia, Leydig and Sertoli Cells**. Cells. 2020 Apr 9;9(4).
- Xu-Yao XH et al. **A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies**. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 2020 Mar 15;49(0):E009.
- Xu X et al **Pathological changes of the spleen in ten patients with new coronavirus infection by minimally invasive autopsies**. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 2020 Apr 27;49(0):E014.
- Yan L et al. **A autopsy Report with Clinical Pathological Correlation**. Arch Pathol Lab Med. 2020 May 18.
- Yang M et al **Pathological Findings in the Testes of COVID-19 Patients: Clinical Implications** [published online ahead of print, 2020 May 31]. *Eur Urol Focus*. 2020;S2405-4569(20)30144-9. doi:10.1016/j.euf.2020.05.009

Considerazioni generali sulla letteratura consultata

Gran parte delle indagini autoptiche analizzate erano correlate di dati clinici, di laboratorio, radiologici e di trattamento. Le scansioni tomografiche del torace hanno mostrato ombre irregolari bilaterali o opacità a “vetro smerigliato” nei polmoni di tutti i pazienti; le scansioni eseguite post mortem riportavano a livello polmonare un'infiltrazione reticolare con un forte consolidamento bilaterale.

Durante il ricovero la maggior parte dei pazienti ha ricevuto terapie antivirali differenti, molti anche terapia antibatterica associata a glucocorticoidi. Sono stati trasferiti in terapia intensiva per complicanze da

distress respiratorio acuto, aritmia , shock. Hanno ricevuto ossigenoterapia ad alto flusso, ventilazione non invasiva e/o invasiva (ossigenazione extracorporea) . Mediamente il tempo dal primo sintomo alla dispnea è stato di 5,0 giorni, al ricovero in ospedale di 7,0 giorni e all'ARDS di 8,0 giorni

La maggior parte dei deceduti presentava una o più comorbidità (ipertensione, obesità, malattie cardiovascolari, diabete mellito). Sebbene i dati disaggregati per sesso disponibili per COVID-19 mostrino un numero uguale di casi tra i sessi, le prove attuali indicano che i tassi di mortalità sono più alti negli uomini che nelle donne. In Italia, circa il 70% era negli uomini, negli Stati Uniti il 59%. Tendenze simili sono state segnalate in Cina e Corea del Sud .

E' tuttavia riportata una predominanza complessiva di maschi (circa 80%) in pazienti con *gruppo sanguigno A* (circa 65%), presumibilmente correlabile ad una soglia di tolleranza inferiore per COVID-19. Tutti i campioni osservati in microscopia ottica e/o attraverso reazioni immunoistochimiche specifiche (CD45, CD68, CD61, TTF1, p4, Ki67) ed in microscopia elettronica a trasmissione (TEM) erano PCR (Polymerase chain reaction) positivi per l'RNA-2019-nCoV. I virioni di 82 nm con spike di 13 nm.

Da maggio è disponibile un anticorpo monoclonale capace di identificare i nucleocapsidi di COVID-19 direttamente su sezioni paraffinate utilizzando in maniera combinata immunoistochimica, immunofluorescenza ed ibridazione in situ. Sarà così possibile utilizzare materiale autoptico bioptico fissato routinariamente in paraffina per studi retrospettivi. Per i dettagli vedi:

Liu J et al. Molecular detection of SARS-CoV-2 in formalin fixed paraffin embedded specimens [published online ahead of print, 2020 May 7]. JCI Insight. 2020;139042. doi:10.1172/jci.insight.139042

Infine dalle indagini autoptiche si ricava una importante informazione indiretta: Journal of American Medical Association (22 aprile) analizzando i dati di 12 grandi ospedali di New York nel mese di marzo, riferisce che su 320 pazienti sottoposti a ventilazione, 282 sono deceduti. Quindi solo una persona su nove è sopravvissuta alla ventilazione meccanica. Uno studio nel Regno Unito riferisce che a Londra solo un terzo dei pazienti COVID-19 nonostante il supporto della ventilazione meccanica è sopravvissuto.

Agli amici della FIMP ed a chi legge: nelle ultime settimane (maggio), durante la stesura di questo *draft*, ho più volte provato difficoltà ed un certo imbarazzo. Alcuni lavori contenuti in molte metanalisi, se letti dettagliatamente, presentano errori metodologici ed evidenti incongruenze statistiche, inoltre molte delle *references* riportate derivano da *database* che assicurano di gestire “numeri” provenienti da ospedali di tutto il mondo, ma che in realtà sono dei contenitori vuoti (SURGISPHERE) che forniscono “dati manipolati” per dimostrare l'efficacia e la nocività di farmaci e molecole in sperimentazione in pazienti COVID-19. Se ne sono accorti anche 182 ricercatori che, pochi giorni fa, in una lettera a *Lancet* hanno denunciato la proliferazione “virale” di lavori poco attendibili che purtroppo alimentano il sensazionalismo irresponsabile dei media e consentono a discutibili “esperti” di discettare dall'alba al tramonto in demenziali talk televisivi. Lo stesso *Lancet* e il *New England Medicine* nel giro di un mese hanno ritrattato i risultati sperimentali pubblicati, da prestigiosi ricercatori della *Harvard Medical School* o del *Policlinico universitario di Zurigo* che peraltro, hanno ritirato frettolosamente quanto pubblicato. E' uno scenario caotico con sempre più ricercatori cooptati da aziende che perseguono l'obbiettivo di far entrare una loro molecola, o un test diagnostico nel “mercato del COVID”. Il risultato è che al momento non sappiamo se la *cloroquina* e l'*eparina* sono veramente efficaci e ogni mattina mi chiedo quanto rischio se prendo o non prendo l'*ACE inibitore* per la mia pressione. Poco fa ho ricevuto la mail di un mio amico ricercatore di qualità attento e obbiettivo che mi scrive “*ormai credo che i dati diffusi siano manipolati a fini economici e politici*”. Nello specifico il mio problema personale è la consapevolezza della responsabilità indiretta che mi assumo nei Vostri confronti e nei Vostri pazienti di fornirvi, inconsapevolmente, informazioni che possono contribuire a farvi aderire a linee guida terapeutiche costruite su dati non veri. Denunciare le anomalie presenti nel “mercato della salute” e dubitare degli “esperti” e di certa editoria scientifica è come sbattere contro il “solito muro di gomma”. Ho 74 anni, ed ho trascorso più di mezzo secolo tra laboratori e aule universitarie nella convinzione che per un vero ricercatore falsificare o inventare un risultato sperimentale è inutile, a volte criminale, ma fundamentalmente stupido. E' come barare a solitario.

COVID-19: Anatomia Patologica Clinica

Gianfranco Tajana
To be continued...