

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche



**Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico
in Medicina e Chirurgia**

Tesi di laurea:

**IMPORTANZA DELL'ESAME GENETICO IN UNA
POPOLAZIONE SELEZIONATA DI PAZIENTI
CON CARDIOMIOPATIA DILATATIVA**

RELATORE

Ch.mo Prof. Marco Canepa

CANDIDATA

Alessia Carpani

Anno Accademico 2019-2020

Sommario

ABSTRACT	1
 Introduzione	1
 Scopo	1
 Metodi.....	1
 Risultati	1
 Conclusioni.....	1
INTRODUZIONE ALLA CARDIOMIOPATIA DILATATIVA	2
 Epidemiologia	2
 Eziologia	3
Cardiomiopatia dilatativa idiopatica.....	3
Cardiomiopatie dilatative secondarie	3
 Fisiopatologia (9)	5
 Anatomia patologica (10).....	5
 Manifestazioni cliniche (9,11).....	6
 Esame obiettivo (9,11)	7
 Esami laboratoristici e strumentali (9,11).....	8
 Terapia (9,11).....	9
APPROCCIO AL PAZIENTE CON CMD IDIOPATICA SECONDO LE LINEE GUIDA EUROPEE ED AMERICANE	10
 Linee guida dell'European Society of Cardiology (ESC) (13).....	10
Raccomandazioni per l'imaging cardiaco in pazienti con insufficienza cardiaca sospetta o accertata	10

Raccomandazioni per prevenire o ritardare lo sviluppo di insufficienza cardiaca manifesta (Classe NYHA I) o prevenire la morte prima dell'inizio dei sintomi.....	11
Trattamenti farmacologici indicati in pazienti con insufficienza cardiaca sintomatica (Classe NYHA II-IV) con ridotta frazione di eiezione.....	13
Altri trattamenti farmacologici raccomandati in pazienti selezionati con insufficienza cardiaca sintomatica (Classe NYHA II-IV) con ridotta frazione di eiezione.....	13
Linee guida dell'American Heart Association (AHA) (14).....	15
Raccomandazioni con forte livello di consenso per la cardiomiopatia familiare.....	15
Raccomandazioni con moderato consenso per la cardiomiopatia familiare.....	15
Raccomandazioni con incertezza per la cardiomiopatia familiare.....	15
APPROCCIO AL PAZIENTE CON CMD IDIOPATICA NELLA PRATICA CLINICA (14).....	16
Compito del centro periferico.....	18
Diagnosi di prima linea.....	18
Terapia di prima linea.....	19
Compito del centro di riferimento	20
Diagnosi di seconda linea.....	20
Scompenso cardiaco avanzato.....	22
Terapia di seconda linea.....	22
Follow-up.....	24
Follow-up a breve termine.....	24
Follow-up a lungo termine.....	26
ANALISI GENETICA NELLA CMD: GENI IMPLICATI e DATI DELLA LETTERATURA	27
CMD secondaria a deficit nella generazione di forza.....	29
CMD secondaria a difetti dell'involucro nucleare.....	30
CMD secondaria a deficit nella trasmissione della forza.....	31
CMD secondaria ad alterata adesione cellula-cellula	31
CMD secondaria ad anomalie del ciclo del calcio.....	32
CMD secondaria ad anomalie del canale ionico	32

Cardiomiopatia dilatativa secondaria a difetto spliceosomiale.....	32
Principali studi scientifici.....	33
STUDIO 1: sequenziamento genico del progetto europeo INHERITANCE (5)	33
STUDIO 2: rivalutazione del contributo genetico nella CMD (17)	37
STUDIO 3: impatto clinico dell'analisi genetica nella CMD (18).....	38
IL NOSTRO PROGETTO.....	40
MATERIALI E METODI	40
Obiettivo	40
Selezione dei pazienti	40
Prelievo di sangue.....	45
Test genetico.....	45
RISULTATI.....	49
DISCUSSIONE.....	56
BIBLIOGRAFIA.....	58
RINGRAZIAMENTI.....	60

Indice delle figure

Figura 1 - Percorso ideale di un paziente NI-DCM dalla diagnosi al follow-up a lungo termine, condiviso tra i centri periferici e di riferimento (14).	17
Figura 2 - Indicazioni per i test genetici in probandi e parenti con sospetta NI-DCM genetica (14).	21
Figura 3 - Gruppi genetici funzionali.....	29
Figura 4 - Panoramica della classificazione delle varianti. Il numero totale di pazienti nell'intera coorte è indicato tra parentesi (5).....	34
Figura 5 - Schema riassuntivo della selezione dei pazienti	44

Indice delle tabelle

Tabella 1 - Schema gruppi genetici funzionali	46
Tabella 2 - Caratteristiche della popolazione presa in esame.....	50
Tabella 3 - Schema varianti di significato clinico incerto	53

ABSTRACT

Introduzione

Solo nel 50% dei casi di cardiomiopatia dilatativa (CMD) è possibile individuare un'eziologia specifica. Nei rimanenti casi è sempre più possibile identificare una base genetica della malattia.

Scopo

Valutare il rendimento diagnostico dell'esame genetico all'interno di una popolazione selezionata di pazienti con scompenso cardiaco affetti da CMD idiopatica.

Metodi

I pazienti sono stati selezionati in modo retrospettivo e prospettico all'interno di una coorte di 872 pazienti in cura all'Ambulatorio dello Scompenso Cardiaco del Policlinico San Martino, secondo i seguenti criteri d'inclusione: i) età di esordio della malattia <65 anni, ii) completamento di accertamenti per esclusione di altre eziologie (inclusa coronarografia) e diagnosi definitiva di CMD idiopatica, iii) persistenza di sintomi nonostante terapia medica ottimale o assenza di sintomi ma presenza di familiari di primo grado. I pazienti sono stati informati dell'utilità secondo le linee guida internazionali di completare il loro percorso diagnostico con il test genetico, offerto loro presso il Laboratorio di Genetica Umana dell'IRCCS Giannina Gaslini. Con i colleghi genetisti è stato concordato un pannello di 49 geni associati a CMD.

Risultati

Sono stati selezionati 59 pazienti (7%), da febbraio 2020 ad oggi effettuati 25 prelievi con risultati disponibili per 8 pazienti. Nei 5 positivi all'esame genetico non sono state riscontrate varianti patogenetiche certe, ma solo varianti a significato clinico incerto nei seguenti geni: 1pz DMD, 1pz TMEM43, 1pz JUP, 1pz MYBPC3, 2pz ALMS1, 1pz FLNC, 1pz LDB3, 1pz TNNI3, 1pz DES e 1pz MYPN.

Conclusioni

Prevediamo di completare il progetto entro fine 2020. Ad oggi non è possibile sapere quale sia la valenza diagnostica del test genetico nella nostra popolazione. Con questo progetto abbiamo tuttavia avviato la possibilità di offrire un completamento diagnostico con esame genetico ai pazienti affetti da CMD idiopatica in Liguria.

INTRODUZIONE ALLA CARDIOMIOPATIA DILATATIVA

La cardiomiopatia dilatativa (CMD) è una malattia primitiva del miocardio caratterizzata da dilatazione del ventricolo sinistro o biventricolare e disfunzione ventricolare sistolica, in assenza di sovraccarico di volume e pressione o di coronaropatia in grado di giustificare la dilatazione e l'ipocinesia (2).

Fino a qualche anno fa era considerata una malattia rara e orfana, con una prevalenza stimata al giorno d'oggi da 1/2500 fino a 1/250 persone (2).

È causa comune di insufficienza cardiaca e di importante morbilità, espressa sotto forma di scompenso cardiaco e di aritmie, e di mortalità (3). Colpisce prevalentemente gli adulti tra i 30 e i 40 anni con un rapporto maschi-femmine di 3:1 (4).

È una delle principali indicazioni al trapianto di cuore che costituisce l'unica terapia per gli stati avanzati della malattia.

La CMD è caratterizzata da:

- dilatazione del ventricolo sinistro (o destro, o entrambi) che si presenta ingrandito ma con pareti sottili;
- riduzione della funzione contrattile che si traduce con una riduzione della frazione di eiezione, che può passare dal normale 60-70% a riduzioni anche inferiori al 20%
- assenza di altre cardiopatie che possono causare questa cardiomiopatia

Epidemiologia

La CMD è tra le patologie del miocardio più diffuse, ma la prevalenza nella popolazione generale rimane indefinita. Si stima che l'incidenza annuale sia di 7 casi per 100.000 abitanti negli adulti, mentre nei bambini sia di 0,57 casi per 100.000 (5).

Interessa tutte le fasce di età, prevalentemente adulti tra i 30-40 anni ed è più frequente negli uomini, con un rapporto maschi-femmine di 3:1 (4). Lo stesso vale anche nei bambini, in cui sono maggiormente colpiti i maschi rispetto alle femmine e i bambini < 1 anno sono maggiormente colpiti rispetto a quelli di età superiore (5).

Eziologia

Si distingue una forma primitiva, detta anche idiopatica, perché non riconosce una precisa causa, e una forma secondaria.

Cardiomiopatia dilatativa idiopatica

La cardiomiopatia dilatativa idiopatica è piuttosto rara e viene diagnosticata e classificata come tale. In circa il 30-50% dei pazienti con CMD idiopatica è dimostrata una certa familiarità, per questo motivo si parla talora di CMD familiare (6). Le modalità di trasmissione sembrano essere molteplici: autosomica dominante, autosomica recessiva, eredità legata al sesso, X-linked. Nei pazienti affetti da CMD idiopatica possono essere mutati geni codificanti alcune proteine contrattili del miocardio e alcuni geni mitocondriali importanti nel processo della fosforilazione ossidativa. Questi aspetti saranno trattati in modo più esteso successivamente.

Cardiomiopatie dilatative secondarie

Tra le forme secondarie sono presenti

- ***Cardiomiopatia alcolica.*** È una forma comune nelle persone che consumano grandi quantità di alcool (> 100 g/dl negli uomini, > 80 g /dl nelle donne) per un periodo lungo di tempo (almeno 5 anni, di solito circa 15 anni) (7). Si viene a creare un danno miocardico attraverso due meccanismi: uno diretto, che è quello dell'etanolo e del suo metabolita acetaldeide e uno indiretto, attraverso la carenza di tiamina. È indistinguibile dalla forma idiopatica, ma mentre quest'ultima è inevitabilmente progressiva, la cardiomiopatia alcolica si arresta e può regredire se il paziente sospende completamente e definitivamente l'ingestione di alcolici. La cardiomiopatia alcolica è diversa dalla cardiopatia da beri-beri, perché la gittata cardiaca è elevata e le resistenze periferiche sono basse, da cui il quadro clinico di scompenso ad alta gettata.
- ***Cardiomiopatia peripartum.*** Insorge durante l'ultimo mese di gravidanza o nei primi mesi dopo il parto (8). Nella maggior parte dei casi lo scompenso regredisce dopo alcuni mesi con ritorno del cuore a volume normale, mentre in altri casi la dilatazione persiste richiedendo supporto meccanico e/o trapianto di cuore e nel caso di una seconda gravidanza può essere fatale (8).
- ***Cardiomiopatie nelle malattie neuromuscolari.*** Nella distrofia muscolare di Duchenne o altre malattie del gruppo (distrofia miotonica, distrofie segmentali)

vi sono alterazioni congenite del miocardio. In alcune forme viene elettivamente compromesso il tessuto di conduzione, con comparsa di blocchi.

- ***Cardiomiopatie da farmaci.*** La forma più frequente è quella da derivati dell'antraciclina (specie adriamicina). La dilatazione è dovuta all'azione tossica dose-dipendente, che può ridursi significativamente associando al trattamento chemioterapico enalapril e carvedilolo. Altri farmaci implicati sono: antidepressivi triciclici, fenotiazine, emetina, litio, propellente per aerosol, irradiazione.
- ***Cardiomiopatie secondarie a malattie immunopatologiche.*** Le connettiviti sistemiche (lupus eritematoso sistemico, poliarterite nodosa, artrite reumatoide, sclerosi sistemica progressiva) o i tumori possono provocare un quadro di CMD che può portare a morte.
- ***Cardiomiopatie secondarie a patologie endocrine e metaboliche.*** Nel feocromocitoma l'eccesso di catecolamine provoca danno al cuore per compromissione della microcircolazione coronarica o per effetto tossico diretto sui miociti. L'ipotiroidismo causa depressione della contrattilità e della conduzione, portando anche a versamento pericardico, mentre l'ipertiroidismo aumento della gittata cardiaca, peggiora l'insufficienza cardiaca sottostante. L'obesità può causare sia una cardiomiopatia con aumento della massa ventricolare e riduzione della contrattilità, che migliora con la perdita di peso, sia peggioramento di un'insufficienza cardiaca da altre cause. Il deficit di tiamina a causa della cattiva alimentazione o di alcolismo, porta a beriberi cardiaco, con vasodilatazione e alta gittata cardiaca seguita da bassa gittata.
- ***Cardiomiopatia secondaria ad infezioni.*** Può essere causata da virus (adenovirus, Coxsackie A and B, cytomegalovirus, Epstein-Barr, human herpes virus 6, HIV, parvovirus B19, varicella), batteri (brucellosi, difterite, psittacosi, febbre tifoide), funghi, spirochete (borreliosi (malattia di Lyme), leptospirosi), protozoi (malattia di Chagas, schistosomiasi, toxoplasmosi) e rickettsie (4).

Fisiopatologia (9)

La perdita di efficienza contrattile da parte del miocardio ventricolare insieme alla riduzione della frazione di eiezione e alla persistenza di importante residuo telesistolico, causano la dilatazione dei ventricoli (aumentano i diametri e i volumi delle cavità ventricolari) e si ha innalzamento delle pressioni di riempimento ventricolare; i ventricoli, già quasi pieni all'inizio della diastole, riscontrano difficoltà nello scarico e questo causa la dilatazione degli atri. Possono essere presenti dilatazione e disfunzione contrattile del ventricolo destro, ma non sono necessari per la diagnosi. Non è infrequente riscontrare trombi endocavitari.

Nella maggior parte dei casi non è possibile risalire alle cause dell'ingrandimento del cuore e per questo viene definita CMD idiopatica. Ci sono anche forme secondarie a causa nota o associate a malattie di altri organi o tessuti.

Anatomia patologica (10)

Esame autoptico. Il cuore ha un peso che supera due o tre volte quello normale, è voluminoso e flaccido. Tutte e quattro le camere sono dilatate; i ventricoli sono più dilatati degli atri. La dilatazione si associa all'assottigliamento parietale, lo spessore del miocardio può essere minore, uguale o maggiore del normale. A causa dell'ipocontrattilità miocardica con stasi si ha formazione di trombi murali che sono frequenti soprattutto all'apice ventricolare e possono dare emboli. Può essere presente reflusso mitralico o tricuspitale, senza alterazioni valvolari, dovuto alla dilatazione delle camere (reflusso funzionale). Talvolta si riscontrano in genere piccole cicatrici nel ventricolo sinistro o destro. Di solito le coronarie sono libere da stenosi significative e nessuna ostruzione coronarica eventualmente presente giustifica il grado di disfunzione.

Esame istologico. All'esame microscopico le alterazioni della forma idiopatica sono aspecifiche e solitamente non corrispondono ad uno specifico agente eziologico. La maggior parte dei miociti sono ipertrofici con nuclei ingranditi, ma molti presentano segni di sofferenza: assottigliati, allungati e irregolari, ipotrofici, con degenerazioni citoplasmatiche, in necrosi o apoptosi. Si riscontrano piccole cicatrici subendocardiche che possono sostituire cellule individuali o gruppi di cellule e fibrosi interstiziale ed endocardica di grado variabile. Queste lesioni sono espressione del processo di guarigione di pregresse necrosi miocardiche ischemiche causate dallo sbilanciamento tra richiesta e perfusione di ossigeno secondario all'ipertrofia. Nessun virus o altri

agenti eziologici sono stati identificati con una certa regolarità nei pazienti con CMD idiopatica.

Manifestazioni cliniche (9,11)

La comparsa della sintomatologia è generalmente graduale. Alcuni soggetti possono essere asintomatici per lungo tempo pur presentando dilatazione del ventricolo sinistro riscontrata alla radiografia del torace o all'ecocardiogramma.

I sintomi principali sono quelli dello scompenso cardiaco, quindi faticabilità e dispnea da sforzo. Nelle fasi più avanzate, la dispnea può insorgere anche a riposo. Su questo parametro si basa la classificazione più utilizzata per l'inquadramento del paziente cardiopatico, quella proposta dalla New York Heart Association (NYHA).

Le principali manifestazioni cliniche sono:

- ortopnea: è di solito un segno tardivo, determinato dalla redistribuzione di liquidi dagli arti inferiori e dal circolo splancnico che avviene in posizione supina. L'ortopnea è rapidamente alleviata dall'assunzione di una posizione semiseduta ed è spesso associata a tosse notturna. Deve essere distinta dalla dispnea correlata ad ascite o obesità;
- dispnea parossistica notturna: il paziente riferisce un risveglio improvviso in uno stato di angosciante mancanza di respiro, sensazione che può persistere per qualche tempo anche dopo aver assunto la posizione seduta. La patogenesi è da ricondursi ad una congestione del piccolo circolo, ma potrebbero essere implicati la ridotta sensibilità dei centri del respiro e la ridotta attività adrenergica che si verificano di notte. La DPN è spesso associata a rumori patologici da broncostenosi, in quanto la congestione delle arterie bronchiali può portare a compressione delle vie aeree;
- nicturia: è definita da un volume urinario maggiore di notte che di giorno. È dovuta al riassorbimento degli edemi declivi che si verifica durante la notte per la posizione supina;
- respiro di Cheyne-Stokes: si riscontra nel 40% dei pazienti con scompenso avanzato a bassa portata ed è dovuto alla diminuita sensibilità alla pCO₂ arteriosa;
- edema polmonare acuto.

Il paziente scompensato può lamentare anche sintomi riferibili al tratto GI, quali inappetenza e dolore addominale per edema della parte intestinale e congestione epatica.

Esame obiettivo (9,11)

Nelle fasi iniziali il paziente può non presentare alcun segno di discomfort a riposo. In fasi più avanzate si può osservare anche a riposo un respiro affannoso tale da impedire al paziente di completare le frasi senza respirare. La tachicardia sinusale è un segno aspecifico dell'iperattività ortosimpatica del paziente scompensato. Estremità fredde, cianosi delle labbra e del letto ungueale sono i segni tipici di ipoperfusione periferica. La pressione arteriosa può essere normale o elevata nelle fasi iniziali, mentre è di solito bassa nelle fasi avanzate a causa della grave insufficienza del ventricolo sinistro.

Il grado di turgore giugulare è un importante indicatore di scompenso.

All'e.o. dell'apparato respiratorio si apprezzano rumori umidi (rantoli e crepitii, soprattutto a livello basale) derivano dalla congestione del circolo polmonare che porta alla extravasazione di liquido all'interno dell'alveolo. In assenza di patologie polmonari concomitanti, i rumori umidi rappresentano un reperto specifico di scompenso cardiaco; d'altro canto, in molti pazienti in stadio avanzato l'obiettività polmonare è muta, in quanto col tempo aumenta il drenaggio linfatico del liquido alveolare. Spesso si riscontra versamento pleurico, inizialmente a destra, poi bilaterale.

In alcuni casi, all'auscultazione si riscontra un terzo tono più intenso all'apice (S3 o galoppo protodiastolico). Spesso sono apprezzabili soffi da insufficienza mitralica e tricuspideale. L'aia cardiaca è di dimensioni aumentate.

A livello addominale è presente epatomegalia, ascite e ittero.

L'edema periferico (malleolare e pretibiale) è un segno cardine dello scompenso, è simmetrico e di minore entità al mattino. Nei pazienti allettati è situato a livello presacrale.

Negli stadi avanzati lo scompenso porta ad uno stato cachettico.

Esami laboratoristici e strumentali (9,11)

All'ECG si può riscontrare tachicardia sinusale, alterazioni aspecifiche del tratto ST e dell'onda T. Si può riscontrare fibrillazione atriale o modificazioni dell'onda P per alterazione dell'atrio sinistro. Si possono osservare tachiaritmie atriali e ventricolari, alterazioni della conduzione atrio-ventricolare.

Alcuni pazienti mostrano al tracciato un blocco di branca sinistro, mentre il blocco di branca destro è meno comune. Il prolungamento dell'intervallo PR è associato a prognosi peggiore.

La radiografia del torace mostra una cardiomegalia moderata o severa, in associazione con un quadro di congestione polmonare e può essere presente un versamento pleurico monolaterale o bilaterale.

All'ecocardiografia è possibile identificare dilatazione ventricolare sinistra e/o destra e ipocontrattilità, aspetti che permettono di distinguere la CMD dalle altre cardiomiopatie. È possibile riscontrare anche le valvulopatie primarie, quali l'insufficienza mitralica e tricuspide, ed i difetti settali.

I parametri (12) che permettono di diagnosticare la CMD all'ecocardiografia sono:

- frazione d'eiezione del ventricolo sinistro $< 45\%$ ($> 2DS$ sotto il valore medio di normalità) e/o una frazione di accorciamento $< 25\%$ ($> 2DS$ sotto il valore medio di normalità);
- diametro telediastolico del ventricolo sinistro $> 117\%$ del valore corretto per età e superficie corporea.

La RM con gadolinio permette di valutare la fibrosi e quindi fornire ulteriori informazioni sulla qualità del tessuto miocardico.

La coronarografia viene presa in considerazione per escludere la presenza di anomalie coronariche o di una patologia aterosclerotica.

Molto importante è il monitoraggio di BNP e pro-BNP, che sono marker sensibili di scompenso con FE ridotta. I valori di questi parametri variano in base all'età, ma una condizione di scompenso è molto probabile quando $BNP > 500$ pg/ml o $pro-BNP > 2000$ pg/ml.

Terapia (9,11)

La terapia della CMD è inizialmente volta al trattamento dello scompenso cardiaco e al miglioramento della prognosi. Si utilizzano pertanto farmaci sintomatici (diuretici, digossina e nitrati) e farmaci che aumentano la sopravvivenza (ACEi o ARBS, β -bloccanti e anti-aldosteronici).

I farmaci sintomatici si danno inizialmente alla massima dose efficace, per poi essere scalati fino ad arrivare alla minima dose efficace.

I farmaci, che aumentano la sopravvivenza, si introducono dopo quelli sintomatici e si alza progressivamente la dose, fino a raggiungere la massima dose tollerata.

La terapia dello scompenso punta a inibire i sistemi attivati dallo scompenso stesso, ossia il sistema catecolaminergico e quello renina-angiotensina-aldosterone.

L'aggiunta progressiva di farmaci è legata alla presenza di sintomi (classificazione NYHA per valutarli) e alla persistenza di disfunzione ventricolare sinistra.

APPROCCIO AL PAZIENTE CON CMD IDIOPATICA SECONDO LE LINEE GUIDA EUROPEE ED AMERICANE

Linee guida dell'European Society of Cardiology (ESC) (13)

Nelle linee guida dell'European Society of Cardiology del 2016 sull'insufficienza cardiaca esiste una sezione dedicata al management del paziente con insufficienza cardiaca con ridotta frazione d'eiezione, nel quale sono inquadrati anche le CMD.

Raccomandazioni per l'imaging cardiaco in pazienti con insufficienza cardiaca sospetta o accertata

Radiografia del torace. La radiografia del torace è di limitata utilità nel lavoro diagnostico di pazienti con sospetta insufficienza cardiaca. Può, tuttavia, mostrare congestione venosa polmonare o edema in un paziente con insufficienza cardiaca (HF) ed è più utile in ambito acuto che in ambiente non acuto.

Ecocardiografia transtoracica (TTE). L'ecocardiografia transtoracica (TTE) è il metodo di scelta per la valutazione della funzione sistolica e diastolica miocardica dei ventricoli sinistro e destro.

Il TTE è raccomandato per la valutazione della struttura e della funzione miocardica in soggetti con sospetta insufficienza cardiaca al fine di stabilire una diagnosi di insufficienza cardiaca a frazione d'eiezione ridotta (HFrEF), mid-range (HFmrEF) o preservata (HFpEF) (Classe I, livello di evidenza C).

Il TTE è raccomandato per valutare la frazione d'eiezione del ventricolo sinistro al fine di identificare i pazienti con scompenso cardiaco che sarebbero adatti per il trattamento farmacologico e mediante i dispositivi (ICD, CRT) (Classe I, livello di evidenza C).

Il TTE è raccomandato per la valutazione della patologia valvolare, della funzione ventricolare destra e della pressione arteriosa polmonare nei pazienti con una diagnosi già stabilita di HFrEF, HFmrEF o HFpEF al fine di identificare quelli idonei per la correzione della patologia valvolare (Classe I, livello di evidenza C).

Il TTE è raccomandato per la valutazione della struttura e della funzione del miocardio nei soggetti che devono essere esposti al trattamento che potenzialmente può danneggiare il miocardio (ad es. chemioterapia) (Classe I, livello di evidenza C).

Altre tecniche (tra cui velocità Doppler del tessuto sistolico e indici di deformazione, cioè deformazione e velocità di deformazione), dovrebbero essere considerate in un

protocollo TTE in soggetti a rischio di sviluppare insufficienza cardiaca al fine di identificare la disfunzione miocardica nella fase preclinica (Classe IIa, livello di evidenza C).

Risonanza magnetica cardiaca. La risonanza magnetica (CMR) è raccomandata per la valutazione della struttura e della funzione miocardica (incluso il cuore destro) in soggetti con scarsa finestra acustica e pazienti con malattie cardiache congenite complesse (tenendo conto delle precauzioni / controindicazioni alla CMR) (Classe I, livello di evidenza C).

La CMR con LGE deve essere presa in considerazione nei pazienti con CMD al fine di distinguere tra danno miocardico ischemico e non, in caso di dati clinici equivoci e altri dati di imaging (tenendo conto delle precauzioni / controindicazioni alla CMR) (Classe IIa, livello di evidenza C).

La CMR è raccomandata per la caratterizzazione del tessuto miocardico in caso di sospetta miocardite, amiloidosi, sarcoidosi, malattia di Chagas, cardiomiopatia da non compattazione della malattia di Fabry e emocromatosi (tenendo conto delle precauzioni / controindicazioni alla CMR) (Classe I, livello di evidenza C).

Test genetici. Si raccomanda l'analisi genetica molecolare nei pazienti con cardiomiopatie quando la prevalenza di mutazioni rilevabili è sufficientemente elevata e coerente per giustificare lo screening genetico mirato di routine. Le raccomandazioni per i test genetici in pazienti con scompenso cardiaco si basano sulla presa di posizione del gruppo di lavoro della ESC sulle malattie miocardiche e pericardiche. Si consiglia la consulenza genetica nei pazienti con cardiomiopatia ipertrofica, CMD idiopatica e cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro. La CMD è idiopatica nel 50% dei casi, di cui circa un terzo è ereditaria. Sono già stati identificati più di 50 geni associati a CMD. Molti geni sono correlati al citoscheletro. I più frequenti sono la titina (TTN), il laminato (LMNA) e la desmina (DES).

Raccomandazioni per prevenire o ritardare lo sviluppo di insufficienza cardiaca manifesta (Classe NYHA I) o prevenire la morte prima dell'inizio dei sintomi

Esistono prove evidenti che l'insorgenza dell'insufficienza cardiaca può essere ritardata o prevenuta attraverso interventi volti a modificare i fattori di rischio per lo scompenso cardiaco o il trattamento della disfunzione sistolica ventricolare asintomatica.

Si raccomanda il trattamento dell'ipertensione per prevenire o ritardare l'insorgenza di scompenso cardiaco e prolungare la vita (Classe I, livello di evidenza A).

Il trattamento con statine è raccomandato nei pazienti con o ad alto rischio di coronaropatia, indipendentemente dal fatto che abbiano o meno disfunzione sistolica del ventricolo sinistro, al fine di prevenire o ritardare l'insorgenza di scompenso cardiaco e prolungare la vita (Classe I, livello di evidenza A).

La consulenza e il trattamento per smettere di fumare e ridurre l'assunzione di alcol sono raccomandati per le persone che fumano o che consumano alcol in eccesso al fine di prevenire o ritardare l'insorgenza di scompenso cardiaco (Classe I, livello di evidenza C).

Il trattamento di altri fattori di rischio di scompenso cardiaco (ad es. obesità, disglucemia) deve essere preso in considerazione al fine di prevenire o ritardare l'insorgenza di scompenso cardiaco (Classe IIa, livello di evidenza C).

Empagliflozin deve essere preso in considerazione nei pazienti con diabete di tipo 2 al fine di prevenire o ritardare l'insorgenza di insufficienza cardiaca e prolungare la vita (Classe IIa, livello di evidenza B).

L' inibitori della conversione dell'angiotensina (ACE-I) è raccomandato nei pazienti con disfunzione sistolica ventricolare asintomatica e con una storia di infarto del miocardio al fine di prevenire o ritardare l'insorgenza di scompenso cardiaco e prolungare la vita (Classe I, livello di evidenza A).

L'ACE-I è raccomandato nei pazienti con disfunzione sistolica ventricolare asintomatica senza anamnesi di infarto miocardico, al fine di prevenire o ritardare l'insorgenza di scompenso cardiaco (Classe I, livello di evidenza B).

L'ACE-I deve essere preso in considerazione nei pazienti con CAD stabile anche se non presentano disfunzione sistolica del ventricolo sinistro, al fine di prevenire o ritardare l'insorgenza di scompenso cardiaco (Classe IIa, livello di evidenza A).

Il β -bloccante è raccomandato nei pazienti con disfunzione sistolica del ventricolo sinistro asintomatica e con una storia di infarto miocardico, al fine di prevenire o ritardare l'insorgenza di scompenso cardiaco o prolungare la vita (Classe I, livello di evidenza B).

Il defibrillatore cardiaco impiantabile (ICD) è raccomandato nei pazienti: a) con disfunzione sistolica del ventricolo sinistro asintomatica (FEVS \leq 30%) di origine ischemica, che sono almeno 40 giorni dopo infarto miocardico acuto, b) con CMD non ischemica asintomatica (FEVS \leq 30%), che ricevono la terapia medica ottimale, al fine di prevenire la morte improvvisa e prolungare la vita (Classe I, livello di evidenza B).

Trattamenti farmacologici indicati in pazienti con insufficienza cardiaca sintomatica (Classe NYHA II-IV) con ridotta frazione di eiezione.

Inibitori della conversione dell'angiotensina (ACE-I). Si raccomanda un ACE-I, oltre a un β -bloccante, per i pazienti sintomatici con HFrEF per ridurre il rischio di ricovero in ospedale e morte (Classe I, livello di evidenza A).

β -bloccante. Si raccomanda un β -bloccante, oltre a un ACE-I, per i pazienti con HFrEF stabile e sintomatico per ridurre il rischio di ricovero in ospedale e morte (Classe I, livello di evidenza A).

Antagonisti dei recettori muscarinici (MRA). Si raccomanda un MRA per i pazienti con HFrEF, che rimangono sintomatici nonostante il trattamento con un ACE-I e un β -bloccante, per ridurre il rischio di ricovero in ospedale e morte (Classe I, livello di evidenza A).

Altri trattamenti farmacologici raccomandati in pazienti selezionati con insufficienza cardiaca sintomatica (Classe NYHA II-IV) con ridotta frazione di eiezione.

Diuretici. I diuretici sono raccomandati per migliorare i sintomi e la capacità di esercizio in pazienti con segni e / o sintomi di congestione (Classe I, livello di evidenza B).

I diuretici devono essere considerati per ridurre il rischio di ricovero per HF in pazienti con segni e / o sintomi di congestione (Classe IIa, livello di evidenza B).

Inibitore della neprilisina del recettore dell'angiotensina. Sacubitril / valsartan è raccomandato in sostituzione di un ACE-I per ridurre ulteriormente il rischio di ricovero in ospedale e morte nei pazienti ambulatoriali con HFrEF che rimangono sintomatici nonostante un trattamento ottimale con un ACE-I, un β -bloccante e un MRA (Classe I, livello di evidenza B).

Inibitore del canale IF. L'ivabradina deve essere presa in considerazione per ridurre il rischio di ricovero in ospedale e morte cardiovascolare in pazienti sintomatici con FEVS $\leq 35\%$, nel ritmo sinusale e una frequenza cardiaca a riposo ≥ 70 bpm nonostante il trattamento con un beta-bloccanti, un ACE-I (o ARB) e un MRA (o ARB) (Classe IIa, livello di evidenza B).

L'ivabradina deve essere considerata per ridurre il rischio di ricovero in ospedale e morte cardiovascolare in pazienti sintomatici con FEVS $\leq 35\%$, nel ritmo sinusale e con

una frequenza cardiaca a riposo ≥ 70 bpm che non sono in grado di tollerare o hanno controindicazioni per un β -bloccante. I pazienti devono anche ricevere un ACE-I (o ARB) e un MRA (o ARB) (Classe IIa, livello di evidenza C).

Bloccanti del recettore dell'angiotensina (ARB). Si raccomanda un ARB per ridurre il rischio di ricovero in ospedale e morte cardiovascolare in pazienti sintomatici, incapaci di tollerare un ACE-I (i pazienti devono anche ricevere un β -bloccante e un MRA) (Classe I, livello di evidenza B).

Un ARB può essere considerato per ridurre il rischio di ricovero in ospedale e morte nei pazienti che sono sintomatici nonostante il trattamento con un beta-bloccante che non sono in grado di tollerare un MRA (Classe IIb, livello di evidenza C).

Idralazina e isosorbide dinitrato. Idralazina e isosorbide dinitrato devono essere considerati in pazienti neri autoidentificati con FEVS $\leq 35\%$ o con un FEVS $< 45\%$ combinato con un ventricolo sinistro dilatato in NYHA Classe III – IV nonostante il trattamento con un ACE-I, un β -bloccante e un MRA per ridurre il rischio di ricovero in ospedale e morte (Classe IIa, livello di evidenza B).

Idralazina e isosorbide dinitrato possono essere considerati in pazienti sintomatici con HFrEF che non possono tollerare né un ACE-I né un ARB (o sono controindicati) per ridurre il rischio di morte (Classe IIb, livello di evidenza B).

Digossina. La digossina può essere presa in considerazione in pazienti sintomatici a ritmo sinusale nonostante il trattamento con un ACE-I (o ARB), un β -bloccante e un MRA, per ridurre il rischio di ricovero (sia per tutte le cause che per HF) (Classe IIb, livello di evidenza B).

N-3 PUFA. Una preparazione PUFAe n-3 può essere presa in considerazione in pazienti HF sintomatici per ridurre il rischio di ricovero cardiovascolare e morte cardiovascolare (Classe IIb, livello di evidenza B).

Linee guida dell'American Heart Association (AHA) (14)

Nelle linee guida dell'American Heart Association del 2016 sulla CMD è presente invece una sezione dedicata alle strategie diagnostiche chiave per la CMD idiopatica o familiare.

Raccomandazioni con forte livello di consenso per la cardiomiopatia familiare

Nei pazienti con CMD idiopatica, si dovrebbe ottenere una storia familiare di 3 generazioni per aiutare a stabilire la diagnosi di CMD familiare (Livello di evidenza C).

I parenti di primo grado dei pazienti con CMD familiare devono sottoporsi a screening ecocardiografici seriali periodici con valutazione della funzione e delle dimensioni del ventricolo sinistro (Livello di evidenza C).

Il test genetico specifico per mutazione è raccomandato per i familiari e i parenti appropriati dopo l'identificazione di una mutazione causativa CMD nel caso indice (Livello di Evidenza B).

Raccomandazioni con moderato consenso per la cardiomiopatia familiare.

Nei pazienti con CMD familiare o idiopatica, i test genetici possono essere utili insieme alla consulenza genetica (Livello di evidenza B).

I test genetici possono essere utili per i pazienti con CMD familiare per confermare la diagnosi, facilitare lo screening in cascata all'interno della famiglia e aiutare nella pianificazione familiare (Livello di evidenza A).

Raccomandazioni con incertezza per la cardiomiopatia familiare.

Può essere ragionevole per i parenti di primo grado dei pazienti con CMD idiopatica sottoporsi a screening ecocardiografici seriali periodici con valutazione della funzione del ventricolo sinistro e della dimensione (Livello di evidenza C).

APPROCCIO AL PAZIENTE CON CMD IDIOPATICA NELLA PRATICA CLINICA (14)

Un documento di esperti italiani in corso di pubblicazione ha recentemente definito gli aspetti più pratici dell'inquadramento diagnostico dei pazienti con CMD o cardiomiopatia dilatativa non ischemica (dall'inglese non-ischemic dilated cardiomyopathy, NI-DCM) (14), di cui qui forniamo una breve sintesi.

La cardiomiopatia dilatativa non ischemica (NI-DCM) è un'entità che raccoglie malattie estremamente eterogenee, all'interno della quale troviamo anche la CMD idiopatica. Questa consapevolezza, sebbene porti a un continuo miglioramento della sopravvivenza, ha reso la gestione dei pazienti più complessa.

La NI-DCM viene considerata più un fenotipo clinico piuttosto che un'entità distinta, un percorso comune condiviso da diverse eziologie. Di recente, questo approccio ha portato a una rivoluzione nel lavoro diagnostico e nella gestione di NI-DCM, consentendo ulteriori miglioramenti clinici nell'aspettativa di vita.

Per questo motivo, la presenza di centri di riferimento con esperienza dedicata dovrebbe essere sistematicamente sostenuta dal ruolo insostituibile degli ospedali periferici nel riconoscimento dei casi clinici più complessi, nella gestione precoce e nel successivo follow-up. In effetti, la connessione tra i centri di riferimento e periferici è importante per una gestione razionale ed economica di pazienti così difficili. Per questo motivo al giorno

d'oggi, la costruzione di una rete tra i centri "spoke" e i centri "hub" è strategica per la gestione della NI-DCM.

La Figura 1 mostra il percorso ideale di un paziente NI-DCM dalla diagnosi al follow-up a lungo termine condiviso tra i centri periferici e di riferimento.

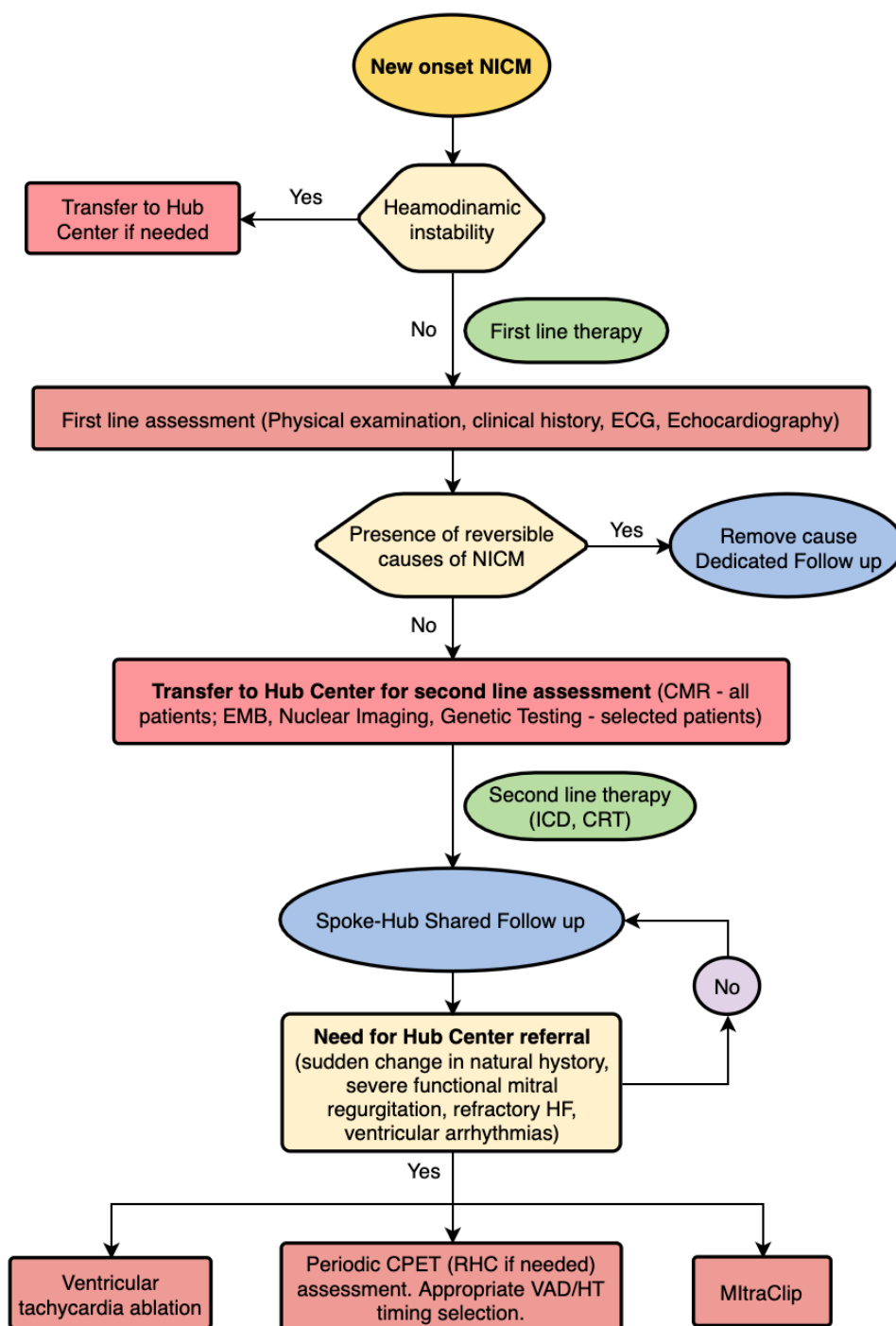


Figura 1 - Percorso ideale di un paziente NI-DCM dalla diagnosi al follow-up a lungo termine, condiviso tra i centri periferici e di riferimento (14).

NI-DCM - Cardiomiopatia non ischemica; CMR - Risonanza magnetica cardiaca; EMB - Biopsia endomiocardica; ICD - Defibrillatore cardiaco impiantabile; CRT - Terapia di risincronizzazione cardiaca; HF - Insufficienza cardiaca; CPET - Esercizio cardiopolmonare; RHC - Cateterismo cardiaco destro; VAD - Dispositivo di assistenza ventricolare; HT - Trapianto di cuore.

Compito del centro periferico

Il centro periferico ha il compito di valutare la presentazione clinica dei pazienti ed effettuare la diagnosi corretta. L'esordio clinico di NI-DCM non è univoco. Il più comune è lo scompenso cardiaco. La presentazione aritmica è meno frequente, più difficile da prevedere e problematica da gestire. I pazienti asintomatici non sono rari a seguito di programmi di screening di attività familiari o sportive.

Diagnosi di prima linea

A causa della prevalenza di cardiopatia ischemica nei Paesi occidentali, ogni paziente con HF con frazione di eiezione ridotta (HFrEF) o evidenza di disfunzione sistolica del ventricolo sinistro deve sottoporsi a angiografia coronarica o tomografia computerizzata, ad eccezione delle forme familiari documentate di CMD o età < 35 (in assenza di fattori di rischio cardiovascolare). In assenza di stenosi > 50% nella coronaria di sinistra e / o di stenosi > 75% in almeno un'arteria epicardica definisce la cardiopatia non ischemica.

Successivamente si procede con la valutazione clinica e bioumorale: valutazione della storia clinica (con particolare attenzione all'età di esordio e all'anamnesi familiare in caso di sospette forme familiari di CMD), esame fisico (con grande attenzione alle anomalie extracardiache), sintomi, test di laboratorio (test di funzionalità renale ed epatica, situazione del ferro, CK), biomarcatori (BNP, NT-proBNP, troponina - quest'ultimo è importante soprattutto nella diagnosi e nella valutazione dell'attività della cardiomiopatia infiammatoria) e si dovrebbe sempre ottenere una radiografia del torace. L'identificazione della CMD o della storia familiare di morte cardiaca improvvisa suggerisce una probabile base genetica della malattia.

Molto importante è raggiungere un'accurata definizione eziologica al fine di: rimuovere possibili fattori ambientali che contribuiscono alla disfunzione ventricolare sinistra, iniziare la terapia medica ottimale per HFrEF e definire meglio la prognosi.

Ultimi ma non meno importanti sono gli strumenti diagnostici:

- **ELETTROCARDIOGRAFIA:** tutti i pazienti con NI-DCM dovrebbero ricevere un ECG standard. Non ci sono risultati ECG specifici in NI-DCM, ma può essere utile per la diagnosi differenziale, quindi non è da sottovalutare.
- **ECOCARDIOGRAFIA:** l'ecocardiografia trans-toracica (TTE) è fortemente raccomandata per la valutazione iniziale e il successivo follow-up di NI-DCM.

Per definizione, i segni distintivi di NI-DCM sono la dilatazione del ventricolo sinistro accompagnata da disfunzione di ventricolo sinistro (FEVS < 50%), non dovuta ad altre condizioni congenite.

Terapia di prima linea

Un'adeguata terapia medica generalmente segue l'*evidence based therapy* (EBT) per l'HFrEF. Nei pazienti con insufficienza cardiaca acuta e insufficienza emodinamica, possono essere indicati la somministrazione endovenosa di diuretici, vasodilatatori e inotropi, mentre la stabilizzazione di aritmie transitorie deve essere raggiunta il più presto possibile. Ogni volta che il paziente è emodinamicamente stabile, si raccomanda la titolazione della terapia antineurormonale. ACEi, sartani e beta-bloccanti sono i cardini del classico approccio all'HFrEF. Come riportato nelle linee guida attuali, i pazienti con disfunzione grave e persistente del ventricolo sinistro (FEVS < 35%) beneficiano della terapia con antagonisti del recettore dei mineralcorticoidi. L'aggiunta più recente ai suddetti farmaci è Sacubitril / Valsartan. Un ulteriore controllo della frequenza cardiaca, quando i beta-bloccanti non sono sufficienti o non tollerati, può essere ottenuto con Ivabradina, tenendo presente che, nei pazienti con ritmo sinusale, una frequenza cardiaca < 70 bpm è l'obiettivo appropriato.

L'impianto ICD è indicato nei pazienti NI-DCM che sono sopravvissuti alla fibrillazione ventricolare o alla tachicardia ventricolare sostenuta (prevenzione secondaria). Le attuali linee guida raccomandano l'impianto ICD per la prevenzione primaria nei pazienti NI-DCM sintomatici (NYHA \geq 2) con FEVS < 35% su ecocardiografia 2-D, dopo almeno 3 mesi di EBT HFrEF.

Un vero blocco di branca sinistro (BBS), associato a grave disfunzione ventricolare sinistra e sintomi, è l'indicazione più solida per la terapia di risincronizzazione cardiaca (CRT): questa procedura migliora la sopravvivenza, riduce i ricoveri ospedalieri, migliora la qualità della vita e induce rimodellamento ventricolare sinistro quando aggiunto allo standard EBT.

Oltre all'EBT per l'insufficienza cardiaca, come già accennato, un approccio guidato dall'eziologia dovrebbe mirare alla causa sottostante della disfunzione del ventricolo sinistro, quando presente, fin dall'inizio della malattia. Il controllo rigoroso della pressione arteriosa, la sospensione dell'alcool, il controllo delle aritmie atriali o ventricolari, la correzione del metabolismo tiroideo, la gestione di uno stato

infiammatorio sistemico con immunosoppressione, devono essere valutati caso per caso al fine di aumentare le possibilità di recupero del ventricolo sinistro.

Compito del centro di riferimento

La valutazione di prima linea a volte non è sufficiente per identificare una causa rimovibile di disfunzione del ventricolo sinistro. In tali casi, i pazienti devono essere indirizzati a centri con esperienza nella diagnosi e nella gestione di scenari complessi.

Diagnosi di seconda linea

I centri di riferimento, oltre ad avere un accesso più facile alle strutture diagnostiche, offrono un background culturale specifico che è cruciale nella valutazione clinica e per la prescrizione e l'interpretazione appropriate del work-up diagnostico di seconda linea. Data la complessità della malattia e i diversi contesti specifici richiesti, i dipartimenti cardiologici di riferimento dovrebbero sostenere la costruzione di "cardiomyopathy teams", idealmente composti da cardiologo clinico, cardiologo interventista, radiologo (con esperienza in risonanza magnetica cardiaca e medicina nucleare), patologo e genetista, tutti con esperienza dedicata in questo campo. In casi selezionati, tale "rete" dovrebbe essere estesa ad altri specialisti come neurologo, endocrinologo, immunologo, nefrologo e reumatologo per un approccio multidisciplinare, spesso fondamentale nella gestione dei pazienti con NI-DCM.

Molto importanti sono gli esami strumentali:

- RISONANZA MAGNETICA CARDIACA (CMR): è il gold standard per la valutazione del volume e delle funzioni del cuore e grazie alla sua capacità di fornire informazioni sulla caratterizzazione dei tessuti è uno strumento prezioso per la valutazione dei pazienti con NI-DCM. Usando le immagini post contrasto, la CMR può valutare la sostituzione del tessuto cardiaco con tessuto fibroso mediante la presenza di ritardo del gadolinio (LGE). Nella NI-DCM, la LGE può essere identificata in circa il 30% delle persone. Generalmente non corrisponde a nessun territorio arterioso coronarico specifico e si trova più frequentemente negli strati della parete mediana e subepicardica del ventricolo sinistro.
- BIOPSIA ENDOMIocardica (EMB): il suo ruolo è storicamente controverso. L'EMB è particolarmente indicata in presenza di un alto sospetto di cardiomiopatia infiammatoria acuta. Il suo uso clinico limitato è dovuto alla sua

invasività, caratterizzata da una quota non trascurabile di complicanze maggiori (ad es. aritmie o perforazione ventricolare), se non eseguita in centri altamente addestrati. Un'altra limitazione è determinata dalla sua incostante sensibilità, che si basa sul numero di campioni ottenuti, sul lato del cuore campionato (il lato sinistro dei campioni di solito fornisce informazioni più dettagliate, tuttavia EMB è più spesso eseguita sul ventricolo destro a causa di minori rischi procedurali), i tempi della presentazione clinica e l'esperienza del patologo.

- **PROVE GENETICHE:** con l'avvento del Next Generation Sequencing, l'identificazione delle cause genetiche della CMD è notevolmente aumentata. Un'eziologia genetica può essere identificata fino al 50% della cosiddetta CMD "idiopatica" e più di 60 geni sono coinvolti nella sua patogenesi. Secondo le linee guida, i test genetici possono essere clinicamente utili in forme famigliari di CMD e, dopo aver accuratamente escluso le cause secondarie di fenotipo dilatato, in forme sporadiche di CMD.

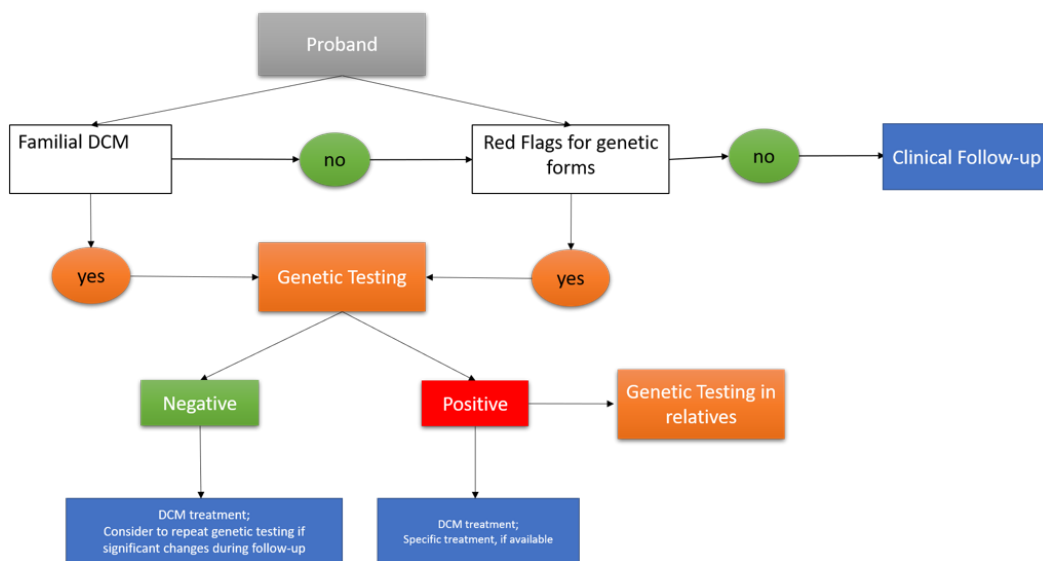


Figura 2 - Indicazioni per i test genetici in probandi e parenti con sospetta NI-DCM genetica (14).

In base al risultato del test genetico, varia l'approccio al paziente:

- **Negativo:** si inizia il trattamento per la CMD e si considera di ripetere il test genetico se si sviluppano cambiamenti significativi durante il follow-up
- **Positivo:** si inizia il trattamento per la CMD e, se è possibile, un trattamento specifico. Effettuare i test genetici nei parenti.

Sono disponibili pannelli predefiniti che testano 20-50 geni, con un tasso di raccolta che varia tra il 15 e il 40%. Tuttavia, la continua scoperta di nuovi geni associati a CMD rappresenta un grave svantaggio del sequenziamento NGS utilizzando un pannello genetico limitato. Per questo motivo, negli ultimi anni, molti laboratori diagnostici hanno scelto il sequenziamento dell'intero esoma (WES) seguito da un'analisi mirata di un pannello genetico regolarmente aggiornato come approccio di prima scelta per malattie geneticamente eterogenee come la CMD.

I test genetici presentano limitazioni: incertezza sulla gravità della mutazione, espressività variabile, scarsa informazione sulla correlazione genotipo-fenotipo e difficile interpretazione del risultato dei test genetici, a causa della crescente frequenza di varianti di significato sconosciuto (VUS). Tuttavia, la diagnosi genica può identificare con precisione i portatori preclinici (pazienti affetti da una variante genetica che non hanno ancora sviluppato una malattia manifesta) che potrebbero trarre beneficio da un'adeguata sorveglianza clinica al fine di ottenere una diagnosi precoce e iniziare l'EBT, quando indicato.

Scompenso cardiaco avanzato

Nel caso di scompenso cardiaco refrattario o grave carico aritmico, viene indicata una rapida centralizzazione al Centro di riferimento per la stabilizzazione. È disponibile una vasta gamma di dispositivi di supporto circolatorio meccanico a breve e lungo termine per il trattamento di shock cardiogeno o scompenso cardiaco refrattario. Il più comunemente adottato è l'ossigenazione extracorporea della membrana, possibilmente insieme al contropulsatore aortico. Solo dopo la stabilizzazione emodinamica tali pazienti possono essere considerati per dispositivi di supporto circolatorio meccanico a lungo termine o trapianto.

Nei centri periferici, la disponibilità di team ECMO con specifici protocolli locali dovrebbe essere prontamente approvata al fine di aumentare la sopravvivenza dei pazienti NI-DCM che presentano shock cardiogenico fulminante.

Terapia di seconda linea

Nei centri di riferimento sono possibili intraprendere terapie di seconda linea:

- MITRA-CLIP: il rimodellamento grave del ventricolo sinistro può portare a rigurgito mitralico funzionale (FMR), che è associato a peggior emodinamica,

sintomi e risultati clinici nei pazienti con NI-DCM. Il trattamento con MitraClip in pazienti NI-CMD sintomatici con FMR moderata o grave senza ventricoli gravemente dilatati, potrebbe rappresentare una valida opzione terapeutica per garantire una riduzione duratura della FMR, associata a una minore probabilità di ricovero a causa di scompenso cardiaco. Ciò può consentire un miglioramento della qualità della vita, della capacità funzionale e, possibilmente, dei tassi di sopravvivenza due anni dopo la procedura.

- **DISPOSITIVO DI ASSISTENZA VENTRICOLARE SINISTRA:** è emerso come terapia alternativa al trapianto di cuore (HT) per i pazienti con insufficienza cardiaca avanzata resistente alla terapia medica. European Society of Cardiology suggerisce di considerare LVAD a lungo termine in pazienti con > 2 mesi di sintomi gravi nonostante la terapia medica e dei dispositivi ottimale e più di uno dei seguenti: 1) FEVS < 25% e piccoVO₂ < 12mL / kg / min; 2) ≥ 3 ricoveri per scompenso cardiaco nei precedenti 12 mesi senza un'ovvia causa scatenante; 3) dipendenza dalla terapia inotropica endovenosa; 4) disfunzione progressiva di organo terminale in presenza di pressione di cuneo ≥20 mmHg e indice cardiaco ≤ 2 L / min / m²; 5) assenza di grave disfunzione ventricolare destra associata a grave rigurgito tricuspide. Durante la selezione dei pazienti per l'impianto di LVAD, è obbligatoria la valutazione ventricolare destra. Secondo le linee guida, i pazienti con insufficienza del ventricolo destro irreversibile non sono adatti per LVAD.

Gli LVAD sono usati come 1) un "ponte verso il trapianto", in attesa della disponibilità di un cuore compatibile, 2) terapia di destinazione, quando le condizioni del paziente sono considerate permanentemente non adatte al trapianto e 3) "ponte verso la candidatura", in pazienti con controindicazioni temporanee al trapianto (ad esempio ipertensione polmonare). Esiste anche la possibilità di utilizzare LVAD come ponte per il recupero, in genere in condizioni reversibili come la miocardite fulminante.

La maggior parte dei pazienti con NI-DCM può essere supportata con un dispositivo di assistenza ventricolare sul lato sinistro; tuttavia, circa il 4% dei pazienti richiede supporto biventricolare. I dispositivi disponibili offrono tassi di sopravvivenza dell'83% a 1 anno e del 46% a 5 anni dopo l'impianto di un LVAD isolato; i pazienti che hanno richiesto il concomitante supporto del

dispositivo di assistenza ventricolare destra hanno avuto una sopravvivenza a 1 e 5 anni rispettivamente del 58% e del 31 %¹⁰⁹.

- TRAPIANTO DI CUORE (HT): è di solito considerato quando sono presenti insufficienza cardiaca refrattaria, funzione RV compromessa, elevata pressione arteriosa polmonare o aritmie ventricolari frequenti. Gli strumenti più utili per la selezione dei candidati HT sono il test da sforzo cardiopolmonare (CPET) e il cateterismo cardiaco destro (RHC).

Senza trapianto o supporto meccanico LV a lungo termine, i pazienti NI-DCM valutati per HT hanno una sopravvivenza prevista inferiore a 2 anni. Gli adulti che ricevono HT hanno una sopravvivenza mediana di 12,5 anni, viceversa i bambini di età inferiore a 1 anno più di 24 anni.

Follow-up

La gestione clinica dei pazienti NI-DCM durante il follow-up deve essere racchiusa in una stretta relazione tra centro di riferimento e centro periferico. Quest'ultimo dovrebbe coinvolgere il centro di riferimento: i) durante una potenziale fase acuta, quando non è in grado di garantire la stabilità emodinamica (cioè quando sono necessari il contropulsatore aortico o l'ECMO ma non disponibili); ii) quando non è possibile trovare una causa secondaria, è quindi necessaria una competenza clinica specifica e per valutare la necessità e ottenere un'interpretazione accurata delle indagini di seconda linea (vale a dire team dedicati per le prestazioni e l'interpretazione di CMR ed EMB). Essendo un campo in rapida espansione con necessità di un aggiornamento continuo nel tempo, i centri di riferimento dovrebbero anche essere incaricati dei test genetici su probandi e parenti; iii) durante il follow-up continuo, quando si osserva un improvviso cambiamento nella storia naturale, per l'ablazione di tachicardie ventricolari frequenti, quando presenti, per MitraClip in quelli con grave rigurgito mitralico funzionale e, in pazienti con HF avanzato, valutazione con CPET (o RHC, quando indicato) e selezione in tempi adeguati di VAD / HT.

Follow-up a breve termine

Rimodellamento inverso ventricolare sinistro (LVRR).

Più di un terzo dei pazienti con NI-DCM sottoposti a trattamento medico ottimale sperimenta un miglioramento transitorio a lungo termine dei parametri funzionali, il cosiddetto rimodellamento inverso ventricolare sinistro. L'LVRR di solito si verifica in

un intervallo di tempo compreso tra 6 e 24 mesi, quindi è fondamentale avere un follow-up strutturato condiviso tra i centri di riferimento e periferici all'interno di questo periodo. La CMR è uno strumento utile per prevedere LVRR: una minore estensione della LGE e un più alto rapporto di edema miocardico sono associati a una maggiore prevalenza.

Genotipi specifici comportano maggiori probabilità di LVRR durante il follow-up: i pazienti con mutazioni TTN sperimentano più frequentemente LVRR durante il follow-up mentre i pazienti con mutazioni strutturali del disco Z citoscheletrico hanno un tasso inferiore.

Stratificazione del rischio aritmico

La stratificazione del rischio aritmico si basa principalmente sulla classe funzionale NYHA e sulla frazione d'eiezione. Tuttavia, i parametri attualmente utilizzati sono in grado di prevedere solo una minoranza delle morti cardiache improvvise (MCI) nei pazienti NI-DCM. Pertanto, un approccio multidisciplinare e multimodale alla stratificazione del rischio aritmico è obbligatorio per prevenire la MCI, ridurre il carico di complicazioni non necessarie relative al dispositivo e selezionare in modo appropriato i candidati all'ICD sottocutaneo.

Genotipi specifici sono fortemente associati ad elevata aritmogenicità. Infatti, le mutazioni LMNA non-senso, la mutazione FLNC tronca, RBM20, PLN, SCN5A e varianti patogenetiche dei desmosomi sono associate a un rischio aritmico più elevato e potrebbero beneficiare di un impianto ICD, indipendentemente dalla FEVS.

ICD indossabile

La profilassi antiaritmica temporanea potrebbe essere una strategia efficace per proteggere i pazienti con MCI in una fase aritmica vulnerabile, ma con un'alta probabilità di recupero durante il follow-up, che potrebbero non trarre beneficio dall'impianto ICD definitivo. L'ICD indossabile (WCD) è un dispositivo temporaneo per prevenire la MCI durante la fase di up-titolazione della terapia medica. Mancano linee guida specifiche per WCD e la decisione viene presa caso per caso. Inoltre, a causa dei costi elevati e della difficile individuazione del dispositivo, WCD è attualmente sottoutilizzato.

Follow-up a lungo termine

Stratificazione del rischio dinamico e guarigione apparente.

La riclassificazione continua della malattia durante il follow-up è obbligatoria per migliorare i risultati e affrontare adeguatamente i fattori nuovi o estrinseci, che potrebbero accelerare lo scenario clinico. Una quantità non trascurabile di pazienti può ripristinare la funzione del ventricolo sinistro verso la normalizzazione, il cosiddetto fenomeno di guarigione apparente. Questo fenomeno, dettato dalla FEVS recuperata, potrebbe portare a sottovalutare la caratteristica dinamica di NI-DCM, indulgendo nella sospensione della terapia medica. Tuttavia, nel corso di un follow-up a lungo termine di oltre 10 anni, circa un terzo di questi pazienti sperimenta un peggioramento della funzione del ventricolo sinistro, evidenziando che non si ottiene una vera guarigione. Nei pazienti NI-DCM, il trattamento ininterrotto è obbligatorio per prevenire le recidive e migliorare i risultati. In effetti, l'interruzione del trattamento medico è associata a esiti peggiori durante il follow-up.

ANALISI GENETICA NELLA CMD: GENI IMPLICATI e DATI DELLA LETTERATURA

Dalla letteratura si apprende che negli ultimi anni sono stati svolti numerosi studi riguardanti la utilità di eseguire esami genetici nella CMD idiopatica e da questi studi si evince che le varianti genetiche ereditate sono state sempre più riconosciute come aventi un ruolo importante nell'eziologia della CMD (15).

Per molte varianti ci sono solidi dati genetici che mostrano un'associazione con CMD in famiglie affini di grandi dimensioni (15). Soprattutto nei paesi occidentali, le dimensioni piccole delle famiglie contemporanee possono oscurare la natura genetica della malattia ed è importante considerare che anche casi sporadici di CMD possono essere dovuti a mutazioni genetiche (6). Per alcune varianti, la segregazione con la malattia è stata difficile da accertare perché ci sono pochi individui affetti in una famiglia o diversi individui chiave hanno rifiutato i test genetici (15). In altri casi, la dimostrazione di genotipi parentali negativi ha indicato che varianti di sequenze di DNA sono sorte de novo in singoli probandi (15).

La valutazione genetica della CMD dovrebbe iniziare con valutazioni estese e accurate della storia familiare del paziente, coinvolgendo almeno 3 generazioni e includendo la storia di cardiomiopatia e la storia di morte improvvisa inaspettata in giovane età (< 35 anni) (12). Il ruolo principale dei test genetici nei pazienti con una diagnosi clinica definita è quello di fornire una diagnosi predittiva nei parenti di primo grado, specialmente negli individui asintomatici (16). Sebbene la CMD nella maggior parte delle famiglie sia stata attribuita a una singola mutazione, è stata talora segnalata la presenza di due varianti potenzialmente patogene in un gene (15).

Le famiglie con CMD mostrano più comunemente una modalità di ereditarietà autosomica dominante, sebbene si possa osservare anche un'ereditarietà autosomica recessiva e legata all'X (15).

Sebbene le mutazioni genetiche ereditarie siano presenti dalla nascita, le manifestazioni fenotipiche di CMD non sono evidenti fino alla successiva vita adulta. L'assenza di malattia nei membri più giovani della famiglia adulta non implica necessariamente uno stato genotipo negativo ma può riflettere una penetranza legata all'età (15).

Alcune famiglie hanno un fenotipo caratterizzato principalmente da CMD, mentre in altre possono esserci caratteristiche cardiache associate, come anomalie del sistema di

conduzione, fibrillazione atriale e prolasso della valvola mitrale o caratteristiche extracardiache, tra cui miopatia scheletrica e perdita dell'udito neurosensoriale. Il fenotipo clinico può fornire importanti indizi sul genotipo sottostante. Ad esempio, le famiglie con mutazioni del gene della laminina (LMNA) hanno in genere un prodromo di anomalie della conduzione progressiva e aritmie sopraventricolari, con conseguente sviluppo di CMD. Anomalie del sistema di conduzione sono spesso presenti nelle famiglie con mutazioni del gene del canale del Na voltaggio-dipendente di tipo 5 (SCN5A) e della desmina (DES). Il coinvolgimento del muscolo scheletrico può essere trovato con mutazioni di LMNA, DES o DMD (distrofina) (15).

Le manifestazioni cliniche variano costantemente tra le persone colpite, con diversa insorgenza di età, storia naturale e gravità dei sintomi. In molti soggetti affetti esiste una "fase preclinica" o "fase iniziale" che potrebbe essere associata a nessuna espressione cardiaca, dilatazione ventricolare isolata senza insufficienza e/o aritmie o conduzione, difetti di sistema; alcuni di questi individui possono progredire verso la "fase clinica", caratterizzata da dilatazione e fallimento della frazione d'eiezione (16). Possono variare in modo significativo anche all'interno delle famiglie o tra famiglie che portano la stessa variante. Queste osservazioni suggeriscono che ulteriori fattori genetici o ambientali possono modificare il fenotipo della malattia (15).

Sebbene si sia cercato un modello unificante per la patogenesi della CMD familiare, è evidente che le mutazioni genetiche hanno effetti a valle diversi e interagenti che culminano nella disfunzione sistolica ventricolare sinistra. Sono state identificate mutazioni nelle proteine nucleari, sarcomeriche, citoscheletriche e delle membrane superficiali che hanno diverse conseguenze strutturali e funzionali che compromettono la generazione della forza del miocardio, la trasmissione della forza o la sopravvivenza delle cellule (15).

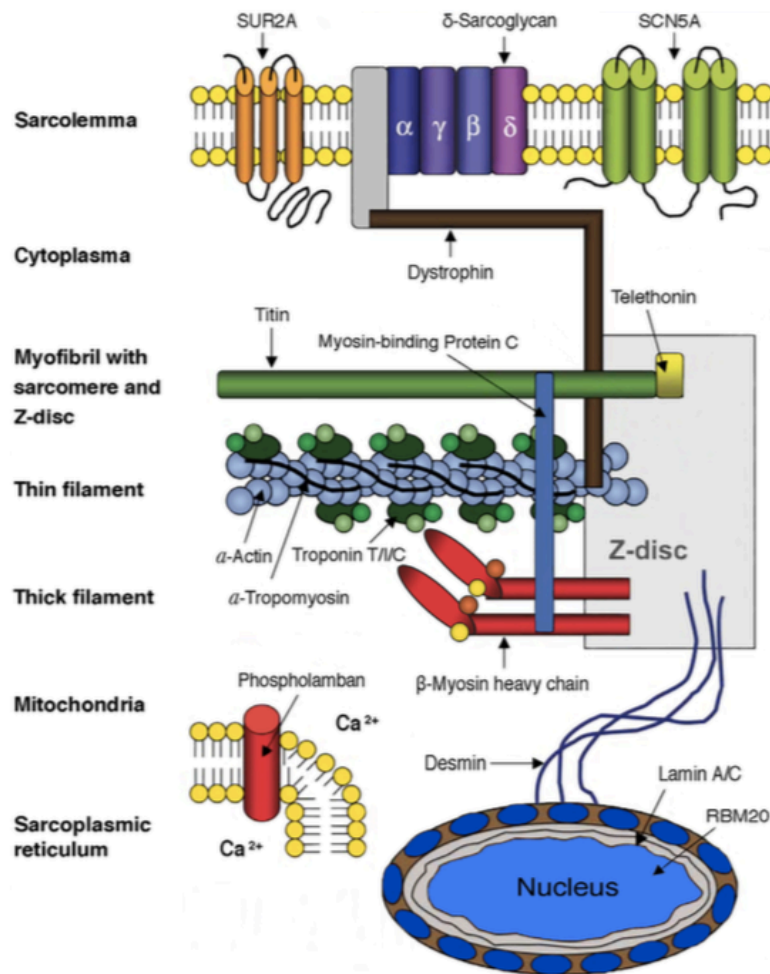


Figura 3 - Gruppi genetici funzionali

CMD secondaria a deficit nella generazione di forza

Le mutazioni all'interno dei geni che codificano per le proteine sarcomeriche (miosina, actina, troponina e tropomiosina) sono le cause più frequenti di CMD, perché determinano la produzione di proteine del muscolo che funzionano in modo anomalo. La desensibilizzazione del calcio e/o la ridotta attività dell'ATPasi, causano la compromissione della funzione motoria (16).

La **titina (TTN)** è la più grande proteina espressa nel cuore (12) e la terza più abbondante nei muscoli striati (16). È necessaria per l'assemblaggio del sarcomero insieme ai filamenti sottili e spessi; fornisce anche la maggior parte della forza passiva e modula la forza contrattile attiva nei muscoli striati. Lo splicing alternativo del gene TTN gigante produce diverse isoforme proteiche, di cui N2B e N2BA sono le più rappresentate nel cuore (16). Le mutazioni TTN sono la causa più comune di CMD, che

rappresentano 1/4 della CMD familiare e 1/5 dei casi sporadici, e hanno un ruolo importante nella causa della malattia (16). TTN ha un'alta prevalenza di varianti missenso, sia rare che comuni (12).

È stato dimostrato che i troncamenti del TTN sono osservati a bassa frequenza nella popolazione generale, che varia dall'1% al 3% (12). Le varianti patogenetiche, tuttavia, sono distribuite in modo non casuale all'interno del gene TTN, localizzandosi nella regione della banda A, a differenza delle varianti rilevate nelle coorti di controllo (16).

L'inclusione del gene TTN nei geni causativi CMD ha permesso un drastico aumento della sensibilità clinica dei test genetici per CMD, e questo gene deve quindi essere incluso in ogni screening genetico.

Dati recenti di test genetici clinici indicano che la **catena pesante β -miosina (MYH7)**, la **troponina cardiaca T (TNNT2)** e l' **α -tropomiosina (TPM1)** sono i geni sarcomerici mutati più frequenti nella CMD, che vanno dal 2% al 4%, mentre le mutazioni nella **proteina C legante la miosina (MYBPC3)** sono rare (12).

CMD secondaria a difetti dell'involucro nucleare

Le laminopatie sono un gruppo di malattie genetiche caratterizzate da gradi variabili di coinvolgimento cardiaco (CMD) e muscolare scheletrico (dall'invecchiamento precoce alle miopatie), prodotte da mutazioni della **lamina (LMNA)** (12,16). LMNA è una proteina intermedia dei filamenti che formano la lamina nucleare, una struttura fibrosa che fornisce supporto alla membrana nucleare nei cardiomiociti. Hanno un ruolo complesso nel mantenere la forma e la struttura nucleare, nella regolazione trascrizionale, nell'organizzazione della cromatina e nel posizionamento e funzionamento dei pori nucleari (16). LMNA codifica per le lamine A e C (12). Le mutazioni LMNA missenso e troncanti rappresentano il 5% - 8% del CMD genetico (12), sono associate a difetti del sistema di conduzione e coinvolgimento dei muscoli scheletrici e conferiscono una prognosi peggiore, inclusa la morte cardiaca improvvisa (16). Queste mutazioni possono verificarsi ovunque lungo la lunghezza della regione di codifica e il meccanismo responsabile può essere un mix di molteplici difetti, tra cui la funzione negativa dominante e l'aploinsufficienza (12).

Le mutazioni di LMNA si associano frequentemente ad aritmie che includono disfunzione del nodo del seno, fibrillazione atriale, disfunzione del nodo atrioventricolare, TV, fibrillazione ventricolare e SCD (12).

CMD secondaria a deficit nella trasmissione della forza

L'apparato citoscheletrico comprende diverse proteine filamentose, come distrofina, desmina, delta-sarcoglicano e vinculina tra le altre che collegano l'apparato contrattile al sarcolemma, trasmettendo la forza generata dal sarcomero alla matrice extracellulare (16).

Le mutazioni che colpiscono questo gruppo di proteine sono anche responsabili delle distrofie muscolari, che sono spesso associate a CMD (12,16).

La **distrofina (DMD)** è una proteina presente nel tessuto muscolare e la sua funzione è quella di stabilizzare la membrana cellulare della fibra muscolare. Le sue mutazioni si collegano alla CMD legata all'X e alla cardiomiopatia nella distrofia muscolare di Duchenne (12).

La **desmina (DES)** è una proteina citoscheletrica che forma filamenti intermedi specifici per il muscolo (16).

Più recentemente, le mutazioni nella **filamina C (FLNC)** sono state descritte in CMD. La FLNC porta a cardiomiopatia associata a un alto tasso di aritmie ventricolari e SCD, suggerendo che la filamina C ha un ruolo nel sistema di conduzione cardiaca oltre al cardiomiocita (12).

BAG3 appartiene anche alla famiglia chaperone delle proteine dello shock termico ed è altamente espresso nel cuore, in modo particolare nel disco Z. Saranno necessari ulteriori esperimenti per chiarire il meccanismo di patogenicità, è molto probabilmente correlato al suo difetto di funzione chaperone (16).

CMD secondaria ad alterata adesione cellula-cellula

I desmosomi sono strutture cellulari specializzate nell'adesione cellula-cellula. Sono presenti nell'epitelio squamoso e nei tessuti muscolari, compreso il cuore, in cui forniscono integrità e comunicazione meccanica ed elettrica tra cellula e cellula. Le mutazioni nei geni della **desmocollina 2 (DSC2)**, della **desmogleina 2 (DSG2)**, della **desmoplachina (DSP)**, della **placofilina 2 (PKP2)** che codificano per le proteine desmosomiche sono responsabili della cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro (ARVC) e della CMD, in questo ultimo caso con una prevalenza fino al 13% in una coorte CMD (16).

CMD secondaria ad anomalie del ciclo del calcio

Il gene **PLN** codifica il **fosfolambano**, una proteina transmembrana con 52 residui di amminoacidi che, se non fosforilata, inibisce il SERCA (reticolo sarcoplasmatico Ca^{2+} - ATPasi) (12). Le mutazioni del gene determinano un aumento dell'inibizione del SERCA con ricaptazione difettosa del calcio, con conseguente riduzione della contrattilità e dilatazione cardiaca (16).

CMD secondaria ad anomalie del canale ionico

Le mutazioni nei geni del canale ionico (**SCN5A**, **ABCC9**) sono in genere associate a una varietà di disturbi aritmici. La dilatazione ventricolare e il pattern CMD sono meno comuni e quasi sempre preceduti da aritmie e/o difetti del sistema di conduzione. I meccanismi patogenetici non sono completamente compresi (16).

SCN5A codifica il principale canale del sodio espresso nel cuore e mutazioni eterozigoti dominanti in SCN5A si trovano anche nelle sindromi aritmiche primarie, comprese la sindrome del QT lungo e la sindrome di Brugada. Anche le mutazioni missenso in SCN5A sono state descritte nel CMD familiare e queste mutazioni comportano un rischio maggiore di aritmie (12).

Cardiomiopatia dilatativa secondaria a difetto spliceosomiale

L'**RNA-binding protein 20 (RBM20)** è una proteina legante l'RNA, coinvolta nel processo di splicing alternativo. La CMD associata alle mutazioni RBM20 è caratterizzata da esordio precoce, grave insufficienza cardiaca e alto potenziale aritmico (16). L'RBM20 è altamente espresso nel cuore, sia negli atri che nei ventricoli, e regola lo splicing di molti geni coinvolti nel mantenimento della struttura sarcomerica e della funzione cardiaca, tra cui TTN, LDB3 (cypher), CAMKII-d e CACNA-1C. Quei geni hanno precedentemente dimostrato di essere coinvolti nella CMD e nelle aritmie (16).

Principali studi scientifici

Analizziamo ora tre dei principali studi pubblicati sull'argomento in letteratura.

STUDIO 1: sequenziamento genico del progetto europeo INHERITANCE (5)

Il progetto europeo INHERITANCE comprende 639 pazienti con CMD familiare sporadica o comprovata, arruolati in otto differenti centri (Danimarca, Svezia, Francia, Italia, Germania, Regno Unito, Paesi Bassi e la Spagna). Il numero proporzionale di pazienti con CMD familiare era del 49%, mentre con CMD sporadica era del 51%.

I pazienti che sono stati studiati presentavano una frazione di eiezione ventricolare sinistra del 31,2% (+/- 12,1), mentre la classe funzionale NYHA era principalmente tra I-III.

Il trapianto di cuore è stato eseguito in 113 pazienti e altri 130 hanno ricevuto l'impianto ICD. Sono stati colpiti maggiormente i soggetti di sesso maschile.

Fino al 2015, anno di questo studio, i limiti tecnologici avevano ostacolato la spiegazione del contributo genetico allo sviluppo di CMD. Con l'utilizzo della Next-Generation Sequencing sono stati superati questi limiti e sono stati analizzati i geni della malattia CMD in una vasta coorte.

Tutti i 639 campioni provenienti dagli otto paesi analizzati in questo studio sono stati elaborati secondo le stesse procedure operative standard (SOP) e misure di controllo della qualità, consentendo confronti tra campioni dettagliati.

Le varianti sono state classificate in categorie (vedi *Figura 4*): la categoria Ia consiste nel codificare le mutazioni di malattia (malattie del muscolo cardiaco e canalopatie) presenti nel database delle mutazioni del genoma umano (HGMD) e o sono non-sinonimi, inserzioni di frame-shift o eliminazioni, splice o mutazioni start/stop. La stessa definizione è stata applicata per la categoria Ib, dove abbiamo rimosso ulteriormente le varianti presenti nelle 4300 persone della coorte europeo-americana del database NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP).

Come categoria II, abbiamo definito tutte le varianti non comuni, troncando le varianti che sono o inserimenti/eliminazioni di frameshift, splice o start / stop.

Infine, tutte le varianti non comuni non-sinonime con previsione "malattia" sono state classificate come categoria III.

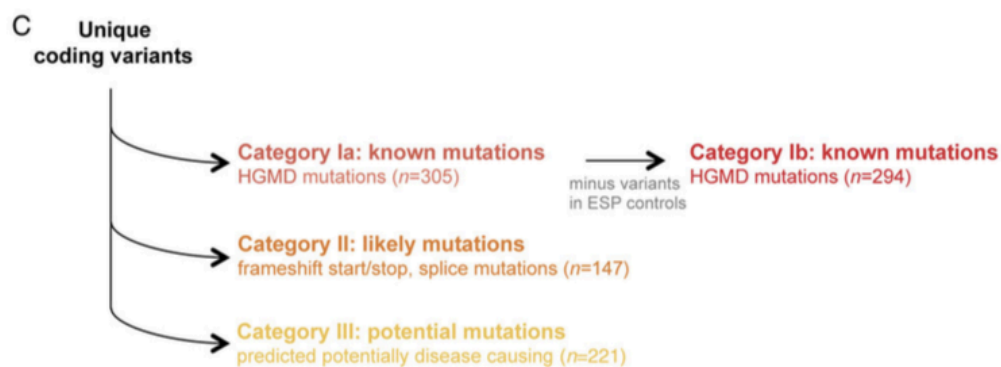


Figura 4 - Panoramica della classificazione delle varianti. Il numero totale di pazienti nell'intera coorte è indicato tra parentesi (5).

Distribuzione delle mutazioni in pazienti con CMD

In totale, sono state identificate 8269 varianti genetiche uniche, sommando fino a 359.669 varianti nella regione target investigata nei 639 pazienti. In media, ogni paziente porta 563 varianti in questa regione.

Una mutazione nota della cardiomiopatia (categoria Ia: segnalata in HGMD come variante di cardiomiopatia o canalopatia) è stata trovata in 305 pazienti (48% di tutti i pazienti). Quando hanno inoltre escluso le varianti osservate in una grande coorte di controllo non-CMD (progetto di sequenziamento dell'intero esoma ESP) (= categoria Ib), hanno trovato ancora in 294 pazienti (46%) una mutazione nota precedentemente segnalata come causa di malattia. Quando si considerano solo le mutazioni che causano CMD escludendo le mutazioni di altre cardiomiopatie, si riscontra una mutazione nota in 101 pazienti (16% di tutti i pazienti).

Poiché molti casi di cardiomiopatia saranno causati da mutazioni rare o private, che non sono ancora annotate in database come HGMD, hanno successivamente cercato in tutti i pazienti mutazioni "probabili" (categoria II). Le mutazioni "probabili" includono inserzioni/eliminazioni, frame shift, varianti di stop-guadagno/perdita e mutazioni del sito di splicing all'interno dei geni bersaglio.

Oltre alle varianti della categoria Ia, l'analisi ha prodotto inserimenti con conseguente frameshift in tre diversi geni in 13 pazienti e delezioni di frameshift in 10 geni CMD che coprono un totale di 37 pazienti.

Hanno anche identificato 11 varianti di splicing individuali in 8 geni CMD per un totale di 37 pazienti e 60 varianti di stop-guadagno/perdita in 17 geni in altri 67 pazienti.

Complessivamente, troviamo 117 varianti patogene altamente "probabili" precedentemente annotate in 26 geni per 147 pazienti (23%).

Per cercare le "potenziali" disfunzioni (categoria III), hanno selezionato tutte le varianti non comuni, non sinonime e applicato metodi bioinformatici per prevedere un effetto dannoso di ciascuna variante sulla funzione proteica. Usando SNPs & GO, sono state classificate fino a 939 varianti come neutre e 141 varianti uniche come potenzialmente causa di malattia. Queste 141 varianti sono state rilevate in 221 pazienti e sono giudicate rare in base alla loro frequenza.

Osservando il numero totale di varianti all'interno dei geni CMD, la maggior parte delle varianti (13%) si trova nel gene della titina (TTN). Ciò non sorprende poiché TTN è il più grande gene umano e rappresenta più del 20% della regione target totale. Durante la normalizzazione, si può trovare una distribuzione piuttosto uniforme del numero di varianti rispetto alla dimensione di ciascun gene, confutando l'esistenza di hotspot di instabilità nei geni CMD.

Distribuzione degli effetti funzionali delle mutazioni della CMD

Numerosi studi suggeriscono diverse manifestazioni fenotipiche o gravità a seconda del gene interessato, del tipo e del numero di mutazioni. Quindi, hanno testato se i pazienti con CMD nella loro coorte potrebbero essere portatori di mutazioni multiple della malattia, ad es. mutazioni composte (categoria Ib-III). Stati eterozigoti composti sono stati trovati in 49 (7%) pazienti e mutazioni eterozigoti combinate sono state trovate in 243 pazienti (38%). Sono state rilevate in 82 pazienti (12,8%) almeno 3 mutazioni. Considerando solo le varianti molto stringenti della categoria Ib delle mutazioni annotate della malattia dopo l'esclusione delle varianti rilevate in ulteriori coorti di controllo, ancora 82 pazienti (12,8%) sono portatori di almeno 2 mutazioni note della malattia. Utilizzando la regressione logistica, hanno trovato una significativa associazione di pazienti con mutazione di malattia e CMD familiare ($P = 0,03$, categoria Ib – III). Per verificare se questi risultati sono determinati da un effetto del gene TTN di grandi dimensioni, hanno ripetuto l'analisi dopo l'esclusione di qualsiasi variante TTN e hanno trovato ancora 79 pazienti (12,4%) con almeno due varianti di categoria Ib.

Osservando più da vicino le varianti annotate utilizzando il database HGMD (categoria Ib), è noto che un'ampia porzione di malattia che causa mutazioni causa cardiomiopatia aritmogena ventricolare destra (ARVC) (31%), cardiomiopatia ipertrofica (16%) o

canalopatie (6%), indicando una marcata sovrapposizione non solo correlata ai geni della malattia, ma anche a mutazioni specifiche nelle cardiomiopatie.

Tutti i geni studiati in questo studio sono stati classificati in base alle diverse componenti o funzioni cellulari a cui contribuiscono. Sulla base di questa classificazione, il gruppo del sarcomero mostra il numero più alto di pazienti con mutazione (14%), seguito da flusso ionico (13%), z-disc/citoscheletro (12%) e disco intercalato (11%).

Differenze di mutazioni dilatate di cardiomiopatia in Europa

Questo studio comprende un totale di 639 pazienti provenienti da otto paesi, ciò consente di studiare la distribuzione geografica delle varianti rilevanti della cardiomiopatia. Quando si considerano le varianti genetiche della categoria Ib – III, si osservano piccole differenze statisticamente significative tra i paesi per quanto riguarda il tasso di mutazioni (varianti per paziente), con la Germania che mostra il tasso più basso di 0,98 e la Gran Bretagna che mostra il tasso più alto di 1,51 ($P = 0,04$ globale, regressione di Poisson). Tuttavia, le frequenze di mutazione dei geni CMD sono chiaramente più omogenee rispetto a quelle riportate in studi più piccoli, suggerendo che i test genetici per CMD possono essere applicati in un ambiente uniforme in tutta Europa.

STUDIO 2: rivalutazione del contributo genetico nella CMD (17)

In questo studio è stata scelta la più grande coorte internazionale geneticamente caratterizzata di pazienti con CMD, comprendente 2538 probandi suddivisi in due coorti: coorte primaria ambulatoriale e coorte di riferimento diagnostico secondario.

La coorte primaria ambulatoriale era composta da 1040 pazienti con CMD: 863 reclutati presso il National Institute for Health Research Biobank presso il Royal Brompton Hospital di Londra (15 su 863 di età inferiore ai 18 anni) e 177 presso la Singapore Biobank presso il National Heart Centre Singapore. Mentre la coorte di riferimento diagnostico secondario era composta da 1498 pazienti sottoposti a test genetici clinici all'Oxford Medical Genetics Laboratory (fino a 22 geni sequenziati in 304-498 pazienti) o al Laboratory of Molecular Medicine (fino a 45 geni sequenziati in 135-939 pazienti).

La coorte primaria (n = 1040) è stata confrontata con 912 controlli sani, utilizzando il pannello di sequenziamento TruSight Cardio per valutare il carico di rare varianti in 56 geni putativi di CMD, e con il set di dati di riferimento Exome Aggregation Consortium (ExAC). Altri 1498 casi sono stati sequenziati nei laboratori diagnostici su una gamma di piattaforme per un decennio e confrontati con ExAC (n = 60 706). Confrontando entrambe le coorti con il set di dati della popolazione di riferimento ExAC, è stato eseguito un ampio controllo di qualità per ridurre al minimo le differenze causate dalle tecnologie di sequenziamento.

La CMD è stata associata al troncamento delle varianti in TTN e DSP in tutti i confronti. È stata dimostrata un'associazione significativa con le varianti troncanti in BAG3 e LMNA e varianti non troncanti in MYH7 e TNNT2, confrontando ciascuna coorte CMD con ExAC. L'arricchimento delle varianti troncanti in VCL e delle varianti non troncanti in TPM1, LMNA e TNNT2, era unico per la coorte di riferimento diagnostico, come nel caso della variazione aggregata troncante e non troncante in ACTC1, NEXN e PLN.

Da notare che il TTN rappresenta circa l'11% dei casi di CMD in queste coorti, mentre ogni altro gene contribuisce dallo 0,3% al 3%.

Quindi sono stati identificati 12 geni responsabili di CMD, spiegando il 17% dei casi della coorte ambulatoriale e il 26% dei casi della coorte di riferimento diagnostico arricchita in CMD familiare e ad esordio precoce.

STUDIO 3: impatto clinico dell'analisi genetica nella CMD (18)

In questo studio sono stati analizzati tutti i pazienti con CMD, arruolati dal 1 ° gennaio 1988 al 31 dicembre 2015, con i dati di NGS disponibili nel registro familiare della cardiomiopatia.

La diagnosi di CMD è stata eseguita in presenza della frazione di eiezione ventricolare sinistra (FEVS) < 50% al momento della diagnosi in assenza di qualsiasi possibile causa nota di disfunzione ventricolare sinistra. Tutti i pazienti che soddisfano i criteri per la cardiomiopatia ventricolare destra aritmogena (ARVC) "definita", "probabile" o "possibile" (ad eccezione dello stato portatore della mutazione desmosomiale) secondo i criteri diagnostici della Task Force 2010 di ARVC sono stati esclusi dallo studio per evitare l'inclusione di pazienti con ARVC fenotipico. La storia della famiglia è stata ampiamente studiata ed è stato costruito un pedigree di 3 generazioni; tutti i casi familiari soddisfacevano i criteri pubblicati: 2 o più soggetti affetti in una sola famiglia o morte improvvisa inspiegabile in un parente di primo grado di un paziente CMD. Le dimensioni ecocardiografiche del ventricolo sinistro e la funzione sistolica ventricolare sinistra e destra sono state valutate come attualmente raccomandato dalle linee guida internazionali.

I campioni dei pazienti sono stati sottoposti a screening usando NGS per varianti in 23 geni correlati alla malattia. Questi sono stati selezionati perché rappresentano > 97% dei casi genetici di CMD secondo i dati pubblicati e le prove disponibili. Per mantenere un approccio conservativo, tutte le varianti di significato incerto sono state escluse dall'analisi.

I 23 geni causativi analizzati sono stati raggruppati in gruppi di geni funzionali: TTN e LMNA sono stati considerati come gruppi separati, a causa delle loro caratteristiche specifiche di frequenza e fenotipo in CMD. MYH7, ACTC1, TNNT2, MYH6 e MYBPC3 sono stati inclusi nel gruppo dei geni sarcomerici. DES, DMD, FLNC, NEXN e LDB3 sono stati inclusi nei geni strutturali del citoscheletro e del disco-Z. PKP2, DSC2, DSP, DSG2 e JUP sono stati raggruppati come geni desmosomiali. RYR2 e SCN5A sono stati inclusi nel gruppo dei geni del canale ionico. I pazienti che presentavano varianti nei restanti geni sottoposti a screening sono stati raggruppati in un gruppo di "altri geni", tra cui TMEM43, RBM20, BAG3 e LAMA4.

Un totale di 183 varianti patogene o probabilmente patogene correlate alla malattia sono state identificate in 178 pazienti (37%), con prevalenza significativamente più elevata nei casi familiari (43%) rispetto ai casi sporadici (27%).

Il gene più frequentemente coinvolto è stato TTN (11%, 54 pazienti con diverse varianti troncanti che interessano isoforme cardiache N2B e N2BA), seguito da TNNT2 (6%, 28 pazienti con varianti troncanti e missenso), LMNA (4%, 19 pazienti con troncamento e varianti missenso), DSP (3%, 14 pazienti con varianti troncanti e missenso) e FLNC (2%, 12 pazienti con varianti troncanti). I restanti 13 geni (MYBPC3, SCN5A, DMD, DES, MYH7, RBM20, LAMA4, NEXN, PKP2, DSC2, TMEM43, BAG3 e RYR2) hanno rappresentato una frequenza inferiore (< 2%).

I risultati in questa popolazione CMD hanno confermato l'effetto negativo delle varianti di LMNA che causano aritmie potenzialmente fatali, ma hanno anche dimostrato che le varianti desmosomali sono associate ad un aumentato rischio di morte cardiaca improvvisa / tachicardia ventricolare / fibrillazione ventricolare, che è paragonabile alle varianti di LMNA. Sono stati riconosciuti come "genotipi a rischio" per le aritmie fatali anche i geni FLNC e RBM20.

IL NOSTRO PROGETTO

MATERIALE METODI

Obiettivo

L'obiettivo principale del progetto è quello di valutare il rendimento diagnostico del test genetico in una popolazione selezionata di pazienti affetti da CMD selezionati da un'ampia corte di pazienti con scompenso cardiaco. È stato utilizzato un pannello di geni noti per essere associati allo sviluppo di CMD.

I metodi del progetto sono stati condivisi con i colleghi dell'Ambulatorio dello Scompenso Cardiaco e Cardiomiopatie di Trieste, che rappresenta un centro di riferimento internazionalmente riconosciuto in ambito di CMD idiopatiche e particolarmente geneticamente determinate. Abbiamo incontrato i colleghi nel dicembre 2019, e definito con loro i criteri di selezione dei pazienti da candidare a test genetico che seguono, e la lista dei geni meritevoli di essere inseriti nel pannello utilizzato per il progetto. Il pannello dei geni è stato ulteriormente raffinato e definito in successivi incontri con i colleghi del Laboratorio di Genetica Umana dell'IRCCS Istituto Giannina Gaslini.

Selezione dei pazienti

I pazienti sono stati selezionati in modo retrospettivo e prospettico all'interno della popolazione dei pazienti afferenti all'Ambulatorio dello Scompenso Cardiaco dell'ospedale San Martino visitati tra novembre 2014 a dicembre 2019 secondo i criteri d'inclusione ed esclusione sottoelencati con lo scopo di estrapolare quella quota di pazienti affetti da CMD "idiopatica".

CRITERI DI INCLUSIONE

- Età di esordio della malattia < 65 anni
- Disponibilità nella cartella clinica dei seguenti esami strumentali:
 - Ecocardiografia transtoracica
 - Angiografia coronarica

- Diagnosi di CMD con i seguenti criteri:
 - Diametro telediastolico (DTD) > 117% per età e superficie corporea (oppure DTD > 55)
 - Frazione d'eiezione del ventricolo sinistro (FEVS) < 45% e/o una frazione di accorciamento < 25%
- Persistenza di sintomi nonostante terapia medica ottimale
- Assenza di sintomi ma presenza di familiari di primo grado (figli e/o fratelli di età uguale o inferiore a quella del probando)

CRITERI DI ESCLUSIONE (CMD secondaria)

- CMD ISCHEMICA, identificata da almeno uno dei seguenti criteri:
 1. Pregressa sindrome coronarica acuta (SCA) in anamnesi
 2. Pregressa Angioplastica Coronarica Transluminale Percutanea (PTCA) e/o bypass aorto-coronarico (CABG)
 3. Coronarografia con evidenza di placca > 50% su almeno un ramo epicardico
 4. RM cardiaca con evidenza di LGE (late gadolinium enhancement) subendocardico o transmurale (pattern ischemico)
- CMD VALVOLARE, identificata da almeno uno dei seguenti criteri:
 1. Pregressa correzione di vizio valvolare mitro-aortico primitivo in anamnesi
 2. Valvulopatia mitro-aortica primitiva almeno moderata
- CMD IPERTENSIVA, identificata da almeno un criterio in due categorie differenti:
 1. Anamnesi: ≥ 2 farmaci antipertensivi
 2. Imaging: ipertrofia (setto interventricolare (SIV) ≥ 10 mm nella donna, ≥ 11 mm nell'uomo), setto sigmoideo
 3. Segni di danno d'organo: proteinuria, retinopatia
- CMD TACHYCARDIA-INDUCED, identificata da uno dei seguenti criteri:
 1. Recupero della FEVS entro 1-2 mesi dal controllo dell'aritmia/tachicardia (es. post cardioversione elettrica o ablazione)
 2. Recupero della FEVS dopo riduzione del burden extrasistolico (se battiti ectopici ventricolari (BEV) > 10%)

- CMD BBS-INDUCED, identificata dal seguente criterio:
 1. Recupero della FEVS dopo impianto di CRT in paziente con blocco di branca sinistro (BBS) ed evidenza di dissincronia all'ecocardiogramma (apical rocking, septal flash)

- CMD DRUG-INDUCED, identificata da anamnesi positiva per assunzione di:
 1. Chemioterapici (antracicline, anticorpi monoclonali, alchilanti, inibitori della tirosin kinasi, antimetaboliti, inibitori del proteosoma)
 2. Antiretrovirali (zidovudina, didanosina, zalcitabina)
 3. Ipoglicemizzanti (tiazolidinedioni)

- CMD POST MIOCARDITE, identificata da almeno un criterio in due categorie differenti:
 1. Anamnesi: sintomi simil-influenzali, enterite, febbre > 38 °C
 2. RM cuore: edema nelle sequenze T2 pesate, LGE subepicardico (soprattutto se presente nella parete posteriore e laterale)
 3. Biopsia endomiocardica (EMB)

- CARDIOPATIA CONGENITA

I pazienti che sono stati visitati dal 04/2004 al 04/2019 sono 872. Tra questi sono stati selezionati quelli visitati dopo il novembre 2014, inquadrati secondo uno schema ben definito dai nuovi responsabili dell'Ambulatorio, professori Marco Canepa e Pietro Ameri. I pazienti seguiti dal 11/2014 al 04/2019 sono 620 e su questo numero abbiamo svolto il nostro progetto.

Per prima cosa sono stati esclusi i pazienti con > 65 anni alla 1^a visita, quindi coloro che hanno < 65 anni alla 1^a visita sono 195. Successivamente abbiamo tolto i pazienti con FE > 45%, quindi coloro che hanno FE < 45% sono 195. Di questi pazienti abbiamo preso in considerazione i pazienti senza storia di bypass aorto-coronarico (CABG), angioplastica coronarica (PCI), sindrome coronarica acuta (SCA) e sono 103. A seguire abbiamo escluso i pazienti con storia di sostituzione valvolare, Iao moderata/severa, Sao moderata/severa e i pazienti a questo punto sono 95. Poi non sono stati inclusi nello studio i pazienti con storia di tachicardiomiopatia e di miocardiotoxicità da CT/farmaci e i pazienti sono 81. A questo numero sono stati aggiunti 21 pazienti prospettici, per un

totale di 102 pazienti. Da questo numero abbiamo sottratto i pazienti con IM primitiva moderata/severa, i pazienti affetti da CMD su base ipertensiva e i pazienti con stenosi > 50% su almeno un ramo epicardico, arrivando a 59 pazienti da sottoporre al test genetico, quindi 1 paziente su 10 è stato incluso nello studio (circa il 9,5%).

Quindi sono stati esclusi i pazienti con CMD potenzialmente secondaria alle principali eziologie note per predisporre allo sviluppo della cardiomiopatia. Non sono state considerate tra le cause di CMD secondaria l'abuso di alcool e droghe (cocaina, metanfetamine) e la CMD peri-partum, data l'evidenza emersa in letteratura di un substrato genetico alla base della comparsa della malattia in questi contesti.

La selezione dei pazienti che è stata effettuata è schematizzata nella Figura 5.

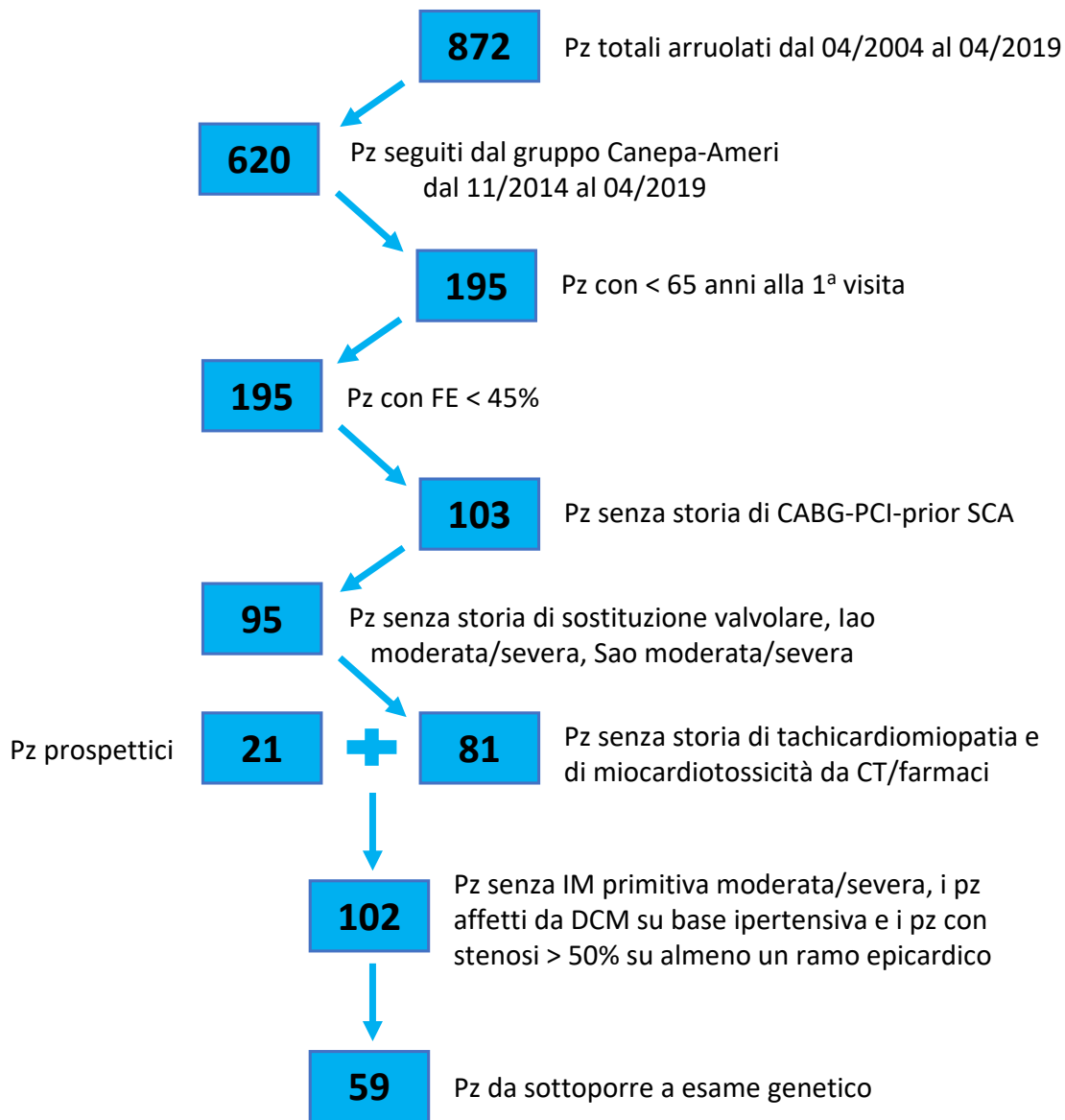


Figura 5 - Schema riassuntivo della selezione dei pazienti

Prelievo di sangue

I pazienti eleggibili sono stati sottoposti a rivalutazione clinica, ECG, albero genealogico e prelievo di sangue per il test genetico. I pazienti sono stati informati riguardo alle caratteristiche dello studio e hanno firmato il consenso al prelievo.

Il prelievo è stato effettuato presso l'Ambulatorio dello Scopenso Cardiaco dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino. È una procedura diagnostica in linea con le indicazioni internazionali, non è un vero studio clinico per questo non è stato chiesto il consenso al comitato etico regionale.

Test genetico

Il test genetico è stato effettuato presso il Laboratorio di Genetica Umana dell'IRCCS Istituto Giannina Gaslini.

È stato utilizzato il sequenziamento NGS di geni associati a CMD mediante kit Trusight Cardio (Illumina) su piattaforma Miseq (Illumina). I 22 geni (evidenziati in rosso) rappresentano il 97% delle mutazioni genetiche correlate alla CMD:

ABCC9, **ACTC1**, ACTN2, ALMS1, **BAG3**, CALR3, CRYAB, CSRP3, **DES**, **DMD**, **DSC2**, **DSG2**, **DSP**, EYA4, GATAD1, GLA, ILK, JPH2, **JUP**, **LAMA4**, LAMP2, **LDB3**, **LMNA**, MURC (CAVIN4), **MYBPC3**, **MYH7**, MYL2, MYL3, MYPN, **NEXN**, PDLIM3, **PKP2**, **PLN**, PRKAG2, **RBM20**, **SCN5A**, TAZ, TCAP, **TMEM43**, TMPO, TNNC1, TNNI3, **TNNT2**, TPM1, **TTN**, TTR, VCL, **FLNC**

I geni, presenti nel kit Trusight Cardio, possono essere raggruppati in gruppi genetici funzionali (vedi Tabella 1): TTN, MYBPC3, MYH7, MYL2, TNNC1, TNNT2, TNNI3, TPM1 e ACTC1 sono stati inclusi nel gruppo dei geni del sarcomero; LMNA e TMPO sono stati inclusi nel gruppo dei geni della membrana nucleare; FLNC, DES, PDLIM3 e VCL sono stati inclusi nel gruppo dei geni strutturali del citoscheletro; DMD e ILK sono stati inclusi nel gruppo dei geni della distrofina; NEXN, LDB3, MYPN, ACTN2, BAG3, TCAP, CRYAB, CSRP3 e MURC sono stati inclusi nel gruppo dei geni del disco-Z; DSP, DSC2, DSG2, PKP2 e JUP sono stati inclusi nel gruppo dei geni del desmosoma; ABCC9 e SCN5A sono stati inclusi nel gruppo dei geni del canale ionico; EYA4, GATAD1, RBM20 e TMEM43 sono stati inclusi nel gruppo dei geni del nucleo; CALR3, JPH2, PLN e PRKAG2 sono stati inclusi nel gruppo dei geni del reticolo

sarcoplasmatico e del citoplasma. I pazienti che presentavano varianti nei restanti geni sottoposti a screening sono stati raggruppati in un gruppo di "altri geni", tra cui ALMS1, GLA, LAMP2, LAMA4, TAZ e TTR.

Tabella 1 - Schema gruppi genetici funzionali

Gruppi genetici funzionali
Geni del sarcomero
Titina (TTN)
Proteina C legante la miosina (MYBPC3)
Catena pesante della β -miosina (MYH7)
Catena leggera della miosina 2 (MYL2)
Troponina cardiaca C (TNNC1)
Troponina cardiaca T (TNNT2)
Troponina cardiaca I (TNNI3)
α -tropomiosina (TPM1)
α -actina cardiaca (ACTC1)
Geni della membrana nucleare
Laminina A/C (LMNA)
Timopoietina (TMPO)
Geni strutturali del citoscheletro
Filamina C (FLNC)
Desmina (DES)
Proteina del dominio LIM PDZ 3 (PDLIM3)
Metavinculina (VCL)
Geni del complesso della distrofina
Distrofina (DMD)
Chinasi legata all'integrina (ILK)
Geni del disco-Z
Nexilina (NEXN)
Proteina associate al dominio LIM 3 (LDB3)
Miopalladina (MYPN)
α -actina 2 (ACTN2)

Atenogene 3 associato BCL2 (BAG3)
Teletonina (TCAP)
α -B-crystallina (CRYAB)
Proteina muscolare LIM (CSR3)
Proteina a spirale legata al muscolo (MURC)
Geni del desmosoma
Desmoplachina (DSP)
Desmocollina 2 (DSC2)
Desmogleina 2 (DSG2)
Placofilina 2 (PKP2)
Placoglobina 2 (JUP)
Geni del canale ionico
Recettore della sulfanilurea 2A (ABCC9)
Canale cardiaco del Na voltaggio-dipendente di tipo V (SCN5A)
Geni del nucleo
Proteina 4 assente negli occhi (EYA4)
Dominio dello zinco GATA contenente 1 (GATAD1)
Proteina 20 legante-RNA (RBM20)
Proteina transmembrana 43 (TMEM43)
Geni del reticolo sarcoplasmatico e del citoplasma
Calreticulina 3 (CALR3)
Junctophilin 2 (JPH2)
Fosfolambano (PLN)
Subunità non catalitica della proteina chinasi AMP attivata γ 2 (PRKAG2)
Altri geni
Proteina associata al centrosoma e al corpo basale (ALMS1)
α -galattosidasi (GLA)
Laminina 2 (LAMP2)
Laminina 4 (LAMA4)
Tafazzina (TAZ)
Transtiretina (TTR)

L'analisi dei dati è stata effettuata mediante software Biomedical Genomics Workbench (v3.5.2, dbSNP146) e Illumina VariantStudio (v3.0) / Miseq Reporter (v2.6.2). Profondità di analisi almeno 20x.

Limiti del Test: la tecnica utilizzata non consente di identificare riarrangiamenti genomici (grandi delezioni/duplicazioni) nelle regioni indagate né mosaicismi somatici.

DATABASE DI RIFERIMENTO: Human Reference Genome hg19, The Human Gene Mutation Database (v2018.2), Alamut (v2.10, dbSNP151).

RISULTATI

Nello studio sono stati inclusi un totale di 59 pazienti affetti da CMD idiopatica, le cui caratteristiche principali sono sintetizzate nella *Tabella 2*. L'età media alla prima valutazione è di 53 anni con una prevalenza di soggetti di sesso maschile (68%). La maggior parte dei pazienti è in classe NYHA (New York Heart Association) I (54%), mentre il ritmo all'ECG è nella maggior parte dei casi un ritmo sinusale (73%). Sono presenti i seguenti fattori di rischio cardiovascolare: obesità (29%), diabete (20%), fumo (76%), ipertensione arteriosa (37%). Poco meno della metà dei pazienti presenta una certa familiarità per CMD e/o morte improvvisa. All'ecocardiografia presentano una frazione di eiezione ventricolare sinistra media pari a 36% e un diametro telediastolico (DTD) medio di 59,61. Ben 57 pazienti sono stati sottoposti a coronarografia, mentre 21 pazienti hanno eseguito anche l'RM. Il trattamento include β -bloccanti (98%) e inibitori della conversione dell'angiotensina (48%) / bloccanti del recettore dell'angiotensina (14%), antialdosteronici (61%) e diuretici (61%). Il 37% dei pazienti è in terapia con il farmaco Sacubitril/Valsartan. Mentre il 15% ha ricevuto una terapia di risincronizzazione cardiaca con CRT-D e il 17% ha impiantato un defibrillatore automatico impiantabile (ICD).

I pazienti sottoposti a prelievo sono 25. L'età media è 53 anni alla 1a visita e il 68% sono di sesso maschile. Per quanto riguarda la classe funzionale NYHA, il 52% è in NYHA I, mentre il 28% è in NYHA II. Il ritmo all'ECG è nel 72% ritmo sinusale. Presentano fattori di rischio cardiovascolare: obesità (28%), diabete (24%), fumo (80%), ipertensione arteriosa (16%). Il 28% dei pazienti presenta una certa familiarità per CMD e l'8% per CMD e morte improvvisa. All'ecocardiografia presentano una frazione di eiezione ventricolare sinistra del 38% e un diametro telediastolico (DTD) medio di 58,92. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a coronarografia, mentre il 32% ha eseguito anche un RM. Il trattamento include β -bloccanti (100%), inibitori della conversione dell'angiotensina (56%) / bloccanti del recettore dell'angiotensina (20%), antialdosteronici (52%) e diuretici (64%). Il 24% dei pazienti è in terapia con il farmaco Sacubitril + Valsartan. Mentre il 16% ha ricevuto una terapia di risincronizzazione cardiaca con CRT-D e il 16% ha impiantato un defibrillatore automatico impiantabile (ICD).

I pazienti di cui abbiamo il risultato del test genetico sono 8. L'età media è 53 anni alla 1^a visita e il sesso maschile rappresenta il 75%. Per quanto riguarda la classe funzionale NYHA, i pazienti sono principalmente in NYHA I (75%), NYHA II (13%) e NYHA III (13%). Il ritmo all'ECG è nel 50% dei pazienti un ritmo sinusale, nel 13% una fibrillazione atriale e nel 37% un ritmo da stimolazione da PM. Presentano fattori di rischio cardiovascolare: obesità (13%), diabete (25%), fumo (88%), ipertensione arteriosa (38%). Il 25% dei pazienti presenta una certa familiarità per CMD. All'ecocardiografia presentano una frazione di eiezione ventricolare sinistra del 35% e un diametro telediastolico (DTD) medio di 58,63. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a coronarografia, mentre il 38% ha eseguito anche un RM. Il trattamento include β -bloccanti (100%), inibitori della conversione dell'angiotensina (63%) / bloccanti del recettore dell'angiotensina (25%), antialdosteronici (38%) e diuretici (63%). Il 13% dei pazienti è in terapia con il farmaco Sacubitril + Valsartan. Mentre il 38% ha ricevuto una terapia di risincronizzazione cardiaca con CRT-D.

Tabella 2 - Caratteristiche della popolazione presa in esame

	Inclusi nello studio N = 59	Già sottoposti al test N = 25	Risultati N = 8
Età media	53	53	53
Sesso (%)			
Maschi	40 (68%)	17 (68%)	6 (75%)
Femmine	19 (32%)	8 (32%)	2 (25%)
Classificazione NYHA (%)			
NYHA I	32 (54%)	17 (52%)	6 (75%)
NYHA I-II	6 (10%)	1 (4%)	0 (0%)
NYHA II	14 (24%)	7 (28%)	1 (13%)
NYHA II-III	2 (3%)	2 (8%)	0 (0%)
NYHA III	5 (9%)	2 (8%)	1 (13%)
Ritmo ECG (%)			
RS	43 (73%)	18 (72%)	4 (50%)
FA	5 (8%)	2 (8%)	1 (13%)
Stimolazione da PM	11 (19%)	5 (20%)	3 (37%)

Fattori di rischio (%)			
Obesità	17 (29%)	7 (28%)	1 (12,5%)
Diabete	12 (20%)	6 (24%)	2 (25%)
Fumo	45 (76%)	20 (80%)	7 (88%)
Iperensione	22 (37%)	4 (16%)	3 (38%)
Famigliarità (%)			
CMD	20 (34%)	7 (28%)	2 (25%)
CMD e SD	2 (4%)	2 (8%)	0 (0%)
SD	2 (4%)	0 (0%)	0 (0%)
Aritmie (%)			
	17 (29%)	8 (32%)	4 (50%)
Dispositivi impiantati (%)			
CRT-D	9 (15%)	4 (16%)	3 (38%)
PM	1 (2%)	1 (4%)	0 (0%)
ICD	10 (17%)	4 (16%)	0 (0%)
LVAD e CRT-D	1 (2%)	0 (0%)	0 (0%)
Ematochimici			
Creatinina media	0,99	1,06	1,10
NT-proBNP medio	1086,35	922	416
BNP medio	113,56	37	37
Ecocardiografia			
DTD medio	59,61	58,92	58,63
FE medio	36%	38%	35%
Esami strumentali (%)			
Coronarografia	57 (97%)	25 (100%)	8 (100%)
RM	21 (36%)	8 (32%)	3 (38%)
Terapia (%)			
ACE	28 (48%)	14 (56%)	5 (63%)
ARB	8 (14%)	5 (20%)	2 (25%)
Sacubitril/Valsartan	22 (37%)	6 (24%)	1 (13%)
β-bloccante	58 (98%)	25 (100%)	8 (100%)
Antialdosteronico	36 (61%)	13 (52%)	3 (38%)
Diuretico	36 (61%)	16 (64%)	5 (63%)

Quindi dei 59 pazienti che sono stati inclusi nello studio, il prelievo è stato effettuato in 25 pazienti e fino ad oggi abbiamo ricevuto 8 risultati:

- 3 pazienti sono risultati negativi;
- 5 pazienti sono risultati positivi.

Nei pazienti risultati positivi non sono state evidenziate varianti patogenetiche certe, ma solo varianti a significato clinico incerto (vus):

- 1 paziente presenta 2 vus: una in emizigosi nel gene DMD (c.6571C>T p.(Arg2191Trp)) e una in eterozigosi nel gene TMEM43 (c.578C>T p.(Ser193Leu)).
- 1 paziente presenta 2 vus: una in eterozigosi nel gene JUP (c.2679_2681delTGA p.(Asp894del)) e una in eterozigosi nel gene MYBPC3 (c.2497G>A p.(Ala833Thr)).
- 1 paziente presenta 2 vus: una in eterozigosi nel gene ALMS1 (c.2207C>T p.(Pro736Leu)) e una in eterozigosi nel gene FLNC (c.1492A>G p.(Lys498Glu)).
- paziente presenta 3 vus: una in eterozigosi nel gene ALMS1 (c.7364T>C p.(Ile2455Thr)), una in eterozigosi nel gene LDB3 (c.47G>A p.(Arg16His)) e una in eterozigosi nel gene TNNT3 (c.88G>A p.(Ala30Thr)).
- 1 paziente presenta 2 vus: una in eterozigosi nel gene DES (c.216C>A p.(Ser72Arg)) e una in eterozigosi nel gene MYPN (c.625_627delTCT p.(Ser210del)).

Tabella 3 - Schema varianti di significato clinico incerto

Gruppi genetici funzionali	Quantità varianti	Varianti	Zigosità
Geni del sarcomero			
TTN	0		
MYBPC3	1	c.2497G>A p.(Ala833Thr)	Eterozigote
MYH7	0		
MYL2	0		
TNNC1	0		
TNNT2	0		
TNNI3	1	c.88G>A p.(Ala30Thr)	Eterozigote
TPM1	0		
ACTC1	0		
Geni della membrana nucleare			
LMNA	0		
TMPO	0		
Geni strutturali del citoscheletro			
FLNC	1	c.1492A>G p.(Lys498Glu)	Eterozigote
DES	1	c.216C>A p.(Ser72Arg)	Eterozigote
PDLIM3	0		
VCL	0		
Geni del complesso della distrofina			
DMD	1	c.6571C>T p.(Arg2191Trp)	Emizigote
ILK	0		
Geni del disco-Z			
NEXN	0		
LDB3	1	c.47G>A p.(Arg16His)	Eterozigote
MYPN	1	c.625_627delTCT p.(Ser210del)	Eterozigote
ACTN2	0		
BAG3	0		
TCAP	0		

CRYAB	0		
CSRP3	0		
MURC	0		
Geni del desmosoma			
DSP	0		
DSC2	0		
DSG2	0		
PKP2	0		
JUP	1	c.2679_2681delTGA p.(Asp894del)	Eterozigote
Geni del canale ionico			
ABCC9	0		
SCN5A	0		
Geni del nucleo			
EYA4	0		
GATAD1	0		
RBM20	0		
TMEM43	1	c.578C>T p.(Ser193Leu)	Eterozigote
Geni del reticolo sarcoplasmatico e del citoplasma			
CALR3	0		
JPH2	0		
PLN	0		
PRKAG2	0		
Altri geni			
ALMS1	1	c.7364T>C p.(Ile2455Thr)	Eterozigote
	1	c.2207C>T p.(Pro736Leu)	Eterozigote
GLA	0		
LAMP2	0		
LAMA4	0		
TAZ	0		
TTR	0		

A causa della pandemia Covid19 che ha colpito l'Italia e tutto il mondo, siamo stati molto rallentati nell'esecuzione dei prelievi e nell'effettuazione del test genetico, perché sono stati chiusi per diversi mesi l'Ambulatorio dello Scompensamento Cardiaco dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino e il Laboratorio di Genetica Umana dell'IRCCS Istituto Giannina Gaslini. L'attività dell'Ambulatorio è recentemente ripresa, così come quella del Laboratorio. I rimanenti pazienti saranno presto contattati per eseguire il prelievo.

DISCUSSIONE

Lo studio prevede l'esecuzione di 59 prelievi di sangue, e su questi dati globali sarà valutato il rendimento diagnostico del test genetico.

Purtroppo la pandemia che ci ha colpiti non ha giovato al nostro lavoro, e allo stato attuale siamo riusciti ad effettuare 25 dei 59 prelievi ed ottenere 8 dei 25 risultati. Lo studio in questi mesi proseguirà effettuando i restanti 31 prelievi e i successivi test genetici. I dati saranno analizzati in modo integrato una volta che saranno concluse tutte le analisi genetiche.

In questa analisi molto preliminare, non abbiamo riscontrato varianti patogenetiche certe, ma solo varianti a significato clinico incerto.

In presenza di varianti a significato clinico incerto, ovvero senza una dimostrata associazione causale con la malattia, è importante comunicare al paziente la NON necessità di procedere ad ulteriori accertamenti genetici, in particolare per quanto riguarda i familiari di primo grado. È nostra intenzione discutere con tutti i pazienti i risultati del test genetico, ed ove necessario indirizzarli a colloquio con il consulente genetista, al fine di chiarire eventuali dubbi ove questi insorgano.

Da un punto di vista scientifico, invece, è importante che tali informazioni siano conservate nel rispetto della privacy presso laboratori di genetica ad alto volume, dove se necessario possano in modo anonimo essere condivise all'interno di larghe collaborazioni multinazionali, al fine di completare studi che permettano di identificare eventuali nuove mutazioni patogenetiche oggi ancora considerate come di significato incerto.

I dati oggi a nostra disposizione non ci permettono di definire se nella popolazione che abbiamo selezionato il test genetico abbia una valenza diagnostica. Tuttavia riteniamo importante aver rinforzato la collaborazione clinica con il laboratorio di genetica di riferimento della nostra Regione, il, su una tematica ad oggi ancora inesplorata in Liguria. Grazie a questo progetto, abbiamo inoltre avviato una fruttuosa collaborazione con l'Ambulatorio dello Scompenso Cardiaco e Cardiomiopatie di Trieste, che rappresenta un centro di riferimento internazionalmente riconosciuto in ambito di CMD idiopatiche e particolarmente geneticamente determinate. Discuteremo con i colleghi esperti di questo centro i risultati del nostro progetto, al fine di accrescere la conoscenza

di queste condizioni all'interno del nostro ambulatorio, a vantaggio della diagnostica delle CMD idiopatiche di tutti pazienti liguri.

BIBLIOGRAFIA

1. Merlo M, Cannatà A, Gobbo M, Stolfo D, Elliott PM, Sinagra G. Evolving concepts in dilated cardiomyopathy. *European Journal of Heart Failure*. 2018;20(2):228–39.
2. Startari U, Taylor MRG, Sinagra G, Lenarda AD, Mestroni L. Cardiomiopatia dilatativa: eziologia, criteri clinici di diagnosi e screening della forma familiare. 2002;3:8.
3. Japp AG, Gulati A, Cook SA, Cowie MR, Prasad SK. The Diagnosis and Evaluation of Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. giugno 2016;67(25):2996–3010.
4. Jefferies JL, Towbin JA. Dilated cardiomyopathy. *The Lancet*. febbraio 2010;375(9716):752–62.
5. Haas J, Frese KS, Peil B, Kloos W, Keller A, Nietsch R, et al. Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy. *European Heart Journal*. 7 maggio 2015;36(18):1123–35.
6. Fernández Solà J. Reversibility of Alcohol Dilated Cardiomyopathy. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. agosto 2018;71(8):603–5.
7. Honigberg MC, Givertz MM. Peripartum cardiomyopathy. *BMJ*. 30 gennaio 2019;k5287.
8. Rugarli. *Medicina interna sistematica*. 7° ed. Edra Masson; 2015.
9. Robbins e Cotran. *Le basi patologiche delle malattie. Patologia generale*. 10° ed. 2016.
10. Harrison. *Principi di medicina interna*. 19° ed. 2016.
11. McNally EM, Mestroni L. Dilated Cardiomyopathy. :18.
12. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the spec. *Eur J Heart Fail*. agosto 2016;18(8):891–975.
13. Bozkurt B, Colvin M, Cook J, Cooper LT, Deswal A, Fonarow GC, et al. Current Diagnostic and Treatment Strategies for Specific Dilated Cardiomyopathies: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation [Internet]*. 6 dicembre 2016 [citato 15 maggio 2020];134(23). Available at:

<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIR.0000000000000455>

14. Marco Merlo, Marco Masè, Antonio Cannatà, Denise Zaffalon, Gerardina Lardieri, Giuseppe Limongelli, Massimo Imazio, Marco Canepa, Silvia Castelletti, Barbara Bauce, Elena Biagini, Ugolino Livi, Giovanni Maria Severini, Matteo Dal Ferro, Martina Perazzolo Marra,, Cristina Basso, Camillo Autore, Gianfranco Sinagra. MANAGEMENT OF NON-ISCHEMIC DILATED CARDIOMYOPATHIES IN CLINICAL PRACTICE: A POSITION PAPER OF THE WORKING GROUP ON MYOCARDIAL AND PERICARDIAL DISEASES OF ITALIAN SOCIETY OF CARDIOLOGY.
15. Fatkin D, Otway R, Richmond Z. Genetics of Dilated Cardiomyopathy. *Heart Failure Clinics*. aprile 2010;6(2):129–40.
16. Araco M, Merlo M, Carr-White G, Sinagra G. Genetic bases of dilated cardiomyopathy: *Journal of Cardiovascular Medicine*. marzo 2017;18(3):123–30.
17. Mazzarotto F, Tayal U, Buchan RJ, Midwinter W, Wilk A, Whiffin N, et al. Reevaluating the Genetic Contribution of Monogenic Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*. 4 febbraio 2020;141(5):387–98.
18. Gigli M, Merlo M, Graw SL, Barbati G, Rowland TJ, Slavov DB, et al. Genetic Risk of Arrhythmic Phenotypes in Patients With Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. settembre 2019;74(11):1480–90.

RINGRAZIAMENTI

Giunta al termine di questa fase del mio percorso formativo desidero ringraziare tutte le persone che mi sono state vicine durante questi anni.

Ringrazio il *prof. Canepa*, il mio relatore, per avermi guidato e supportato nella fase più importante del mio percorso. Un grazie particolare va a *Giulia*, specializzanda in cardiologia, che in questi mesi mi ha aiutata nel progetto e mi ha insegnato tante nozioni durante il periodo in cui ho frequentato l'Ambulatorio dello Scompensato Cardiaco dell'ospedale San Martino.

Voglio ringraziare la *mia famiglia*, che mi ha sempre sostenuta in tutte le mie scelte, offrendomi aiuto, preziosi consigli e permettendomi di realizzare il mio sogno. Grazie a *mia mamma* per le lunghe telefonate per colmare la lontananza, i nostri week end per sole donne e il supporto emotivo prima degli esami; a *mio papà* per avermi sostenuta sempre, trasmesso passione e determinazione nella vita e nel lavoro; al *mio fratellino Alberto* che ogni volta che tornavo a casa da Genova mi abbracciava fortissimo e mi diceva che gli ero mancata tanto. Nonostante a volte siamo cane e gatto gli voglio un bene infinito.

Un ringraziamento speciale va a *mia nonna Olga*, la mia fan numero 1, è stata la prima persona che ho visitato e a cui ho fatto il mio primo vaccino. Sono certa che i nonni *Anna, Luigi e Francesco* mi hanno seguita durante il mio percorso da lassù e hanno sempre vegliato su di me.

Grazie a *Davide*, il mio ragazzo, con cui ho condiviso le mie gioie, le mie soddisfazioni e che nonostante la lontananza mi è stato sempre vicino.

Di amiche non ne ho molte, ma negli ultimi anni si è instaurato con *Alice* un rapporto speciale, di complicità e voglio dirle grazie per aver condiviso con me le ansie, paure, ma anche le gioie di questo lungo percorso. Lei per me in questi mesi difficili c'è stata sempre e io ci sarò sempre per lei.

Ringrazio *Jessica*, mia coinquilina e amica, per avermi supportata e avermi fatto compagnia, in particolare durante la fase difficile del locked-down. Sembra ieri che ci siamo incontrate, invece sono passati 3 anni, il tempo è volato.

Desidero ringraziare *Isabella, Laura, Chiara e Sara*, mie colleghe e amiche universitarie, per aver condiviso con me esperienze indimenticabili di studio e di vita.

Ringrazio *Matteo, Ludovica, Camilla e Francesca* per essermi stati vicini e per avermi reso partecipe delle loro esperienze.