

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:

Rendimento diagnostico del test genetico in una
popolazione selezionata di pazienti con cardiomiopatia
dilatativa

RELATORE

Ch.mo Prof. Italo Porto

CORRELATORE

Ch.mo Prof. Marco Canepa

CANDIDATA

Virginia Eustachi

Anno Accademico 2020-2021

Sommario

ABSTRACT	3
Introduzione.....	3
Scopo	3
Metodi.....	3
Risultati.....	3
INTRODUZIONE ALLA CARDIOMIOPATIA DILATATIVA	5
Epidemiologia.....	5
Eziologia.....	6
Cardiomiopatia dilatativa idiopatica	6
Cardiomiopatie dilatative secondarie.....	6
Fisiopatologia (10).....	9
Anatomia patologica (11)	9
Manifestazioni cliniche (10,12)	10
Esame obiettivo (10,12).....	12
Esami laboratoristici e strumentali (10,12).....	13
Terapia (10,12)	14
APPROCCIO AL PAZIENTE CON CMD IDIOPATICA SECONDO LE LINEE GUIDA EUROPEE.....	15
Linee guida dell'European Society of Cardiology (ESC) (14)	15
Raccomandazioni per l'imaging cardiaco in pazienti con insufficienza cardiaca sospetta o accertata ..	15
Raccomandazioni per l'esecuzione dei test genetici	17
APPROCCIO AL PAZIENTE CON CMD IDIOPATICA NELLA PRATICA CLINICA (14)	18
Compito del centro periferico	20
Diagnosi di prima linea.....	20
Terapia di prima linea	21
Compito del centro di riferimento	22
Diagnosi di seconda linea	22
Scompensamento cardiaco avanzato	25
Terapia di seconda linea	25
Follow-up	27
Follow-up a breve termine.....	27

Follow-up a lungo termine.....	29
ANALISI GENETICA NELLA CMD: GENI IMPLICATI e DATI DELLA LETTERATURA.....	30
CMD secondaria a deficit nella generazione di forza	32
CMD secondaria a difetti dell'involucro nucleare	33
CMD secondaria a deficit nella trasmissione della forza.....	34
CMD secondaria ad alterata adesione cellula-cellula	34
CMD secondaria ad anomalie del ciclo del calcio.....	35
CMD secondaria ad anomalie del canale ionico	35
CMD secondaria a difetto spliceosomiale	35
CMD secondaria a proteine misfolded	36
CMD secondaria a un difetto del pathway RAS-MAPK.....	36
Principali studi scientifici.....	37
STUDIO 1: sequenziamento genico del progetto europeo INHERITANCE (5)	37
STUDIO 2: rivalutazione del contributo genetico nella CMD (17).....	42
STUDIO 3: impatto clinico dell'analisi genetica nella CMD (18)	44
IL NOSTRO PROGETTO.....	47
MATERIALI E METODI	47
Obiettivo	47
Metodi.....	47
Selezione dei pazienti	47
Prelievo di sangue.....	51
Test genetico.....	51
RISULTATI	56
DISCUSSIONE	66
Bibliografia.....	69
RINGRAZIAMENTI	71

ABSTRACT

Introduzione

Si ritiene che la cardiomiopatia dilatativa (CMD) rappresenti l'evoluzione finale comune di un eterogeneo gruppo di disordini. Solo in circa il 50% dei casi di CMD può essere individuata un'eziologia specifica. Nei rimanenti casi, definiti idiopatici, è crescente la probabilità di identificare un substrato genetico.

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 con scompenso cardiaco HFrEF in cura presso l'Ambulatorio dello Scompenso Cardiaco dell'Ospedale Policlinico San Martino, secondo i seguenti criteri d'inclusione: 1) età di esordio della malattia <65 anni, 2) completamento di accertamenti per esclusione di altre eziologie e 3) diagnosi definitiva di CMD idiopatica. Con i colleghi genetisti si è concordato un pannello di 49 geni associato a CMD.

Risultati

Tra i 65 pazienti selezionati (7,4%, 38 retrospettivi, 27 prospettici), 62 vengono sottoposti a prelievo, con risultati disponibili per 51 pazienti al 05/2021. Nei 35 (68%) positivi all'esame genetico sono riscontrate sia varianti patogenetiche certe (18 pazienti, 35%) sia a significato incerto (17 pazienti, 33%). Le prime si riscontrano nei seguenti geni: 8 pz TTN, 3 pz LMNA, 2 pz MYH7, 1 pz FLNC, 1 pz DSP, 1 pz DMD, 1 pz SCN5A, 1 pz ABCC9.

Conclusioni

In questo studio, oltre la metà dei pazienti con CMD idiopatica risulta avere un possibile substrato genetico e circa un terzo una mutazione patogenetica. L'elaborazione definitiva dei dati ottenuti sarà disponibile entro dicembre 2021 e consentirà di definire quale sia il rendimento diagnostico del test genetico nella

popolazione. Con questo progetto abbiamo inoltre 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. Può essere “idiopatica”, familiare/genetica, virale e/o immune, alcolica/tossica, o associata ad un’individuata malattia cardiovascolare il cui grado di disfunzione miocardica non sia spiegato da una condizione di sovraccarico o da un’estensione del danno ischemico (2).

Fino a qualche anno fa era considerata una malattia rara e orfana, con una prevalenza stimata invece 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 (2). Colpisce prevalentemente gli adulti tra i 30 e i 40 anni con un rapporto maschi-femmine di 3:1 (4). Si ritiene che la CMD sia l’evoluzione finale comune di un eterogeneo gruppo di disordini (2).

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 possano spiegare 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). La CMD viene definita familiare: 1) in presenza di due o più individui affetti in una famiglia; 2) in presenza di un parente di primo grado di un paziente con CMD, che abbia avuto una morte improvvisa, documentata ed inaspettata ad un'età < 35 anni (2).

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.** Rappresenta la causa più comune di cardiopatia non ischemica nei Paesi Occidentali ed è responsabile di circa il 45% dei casi. (7) 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) in assenza di altre patologie cardiache significative (6). 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 in quanto quest'ultima presenta elevata gittata cardiaca e basse resistenze periferiche, da cui il quadro clinico di

scompenso ad alta gittata.

- ***Cardiomiopatia peripartum***. Insorge durante l'ultimo mese di gravidanza o nei primi mesi dopo il parto in assenza di preesistente patologia cardiaca (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, peggiorando 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 poi da bassa gittata.
- ***Cardiomiopatia secondaria ad infezioni***. Può essere causata da virus (adenovirus, Cocksackie 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), leptosirosi), protozoi (malattia di Chagas, schistosomiasi, toxoplasmosi) e rickettsie (4).

Fisiopatologia (10)

La CMD è caratterizzata da una progressiva dilatazione cardiaca con disfunzione della contrattilità, in genere associata a ipertrofia. 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.

Anatomia patologica (11)

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 tricuspide, senza alterazioni strutturali 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. È presente 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 (10.12)

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.

Nonostante la prima presentazione possa essere la morte cardiaca improvvisa o un evento tromboembolico, 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 e si possono verificare ortopnea, dispnea parossistica notturna e edemi periferici. Sul grado di dispnea 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:

- astenia: rappresenta uno dei più comuni sintomi dell'insufficienza cardiaca e si manifesta in >90% dei pazienti. Non è sicuramente un sintomo specifico ma la gravità dell'astenia è associata alla prognosi;
- ortopnea: è di solito un segno tardivo, determinato dalla redistribuzione di liquidi dagli arti inferiori e dal circolo splanchnico 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 (10,12)

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 e conseguente extravasazione di liquido nell'interstizio e successivamente 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 con significativa perdita di massa muscolare e di peso, associata a prognosi marcatamente negativa.

Esami laboratoristici e strumentali (10,12)

All'ECG si possono 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 oltre a 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 accorciamento¹ $< 25\%$ ($> 2DS$ 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 quantizzare la fibrosi e quindi di fornire ulteriori informazioni sulla qualità del tessuto miocardico e sulla prognosi rispetto alle aritmie ventricolari.

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 e comorbidità, ma una condizione di scompenso è molto probabile quando BNP > 500 pg/ml o pro-BNP > 2000 pg/ml. Inoltre, l'esame risulta utile anche per valutare la gravità dell'insufficienza cardiaca e formulare la prognosi.

¹ Esprime in percentuale la variazione del diametro telediastolico (EDD) e telesistolico (ESD) del ventricolo sinistro secondo la formula $EDD-ESD/EDD*100$ (valori normali $>30\%$). Si misura con tecnica M-mode.

Terapia (10,12)

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 necessaria, 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

Linee guida dell'European Society of Cardiology (ESC) (14)

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 inquadrate 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. È importante sottolineare come un'importante disfunzione ventricolare sinistra possa essere presente anche in assenza di cardiomegalia alla radiografia.

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. CMR è riconosciuta come gold standard per la misurazione di volumi, massa e FE di entrambi i ventricoli. La risonanza magnetica 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).

Angiografia coronarica. L'angiografia coronarica invasiva è raccomandata in pazienti con insufficienza cardiaca e angina pectoris resistente alla terapia farmacologica o aritmie ventricolari sintomatiche o un arresto cardiaco resuscitato al fine di stabilire la diagnosi di malattia coronarica (CAD) e la sua severità. (Classe I, livello di evidenza C).

L'angiografia coronarica invasiva dovrebbe essere considerata in pazienti con insufficienza cardiaca e probabilità pre-test intermedio-alta di CAD e la presenza di ischemia in stress test non invasivi al fine di stabilire la diagnosi di CAD e la sua severità. (Classe IIa, livello di evidenza C).

TC cardiaca. La TC cardiaca dovrebbe essere considerata in pazienti con insufficienza cardiaca e una probabilità pre-test intermedio-bassa di CAD o in caso di stress test non invasivi equivoci al fine di evidenziare stenosi coronariche. (Classe IIb, livello di evidenza C).

Raccomandazioni per l'esecuzione dei 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 dei quali correlati al citoscheletro. I più frequenti sono la titina (TTN), la lamina (LMNA) e la desmina (DES).

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.

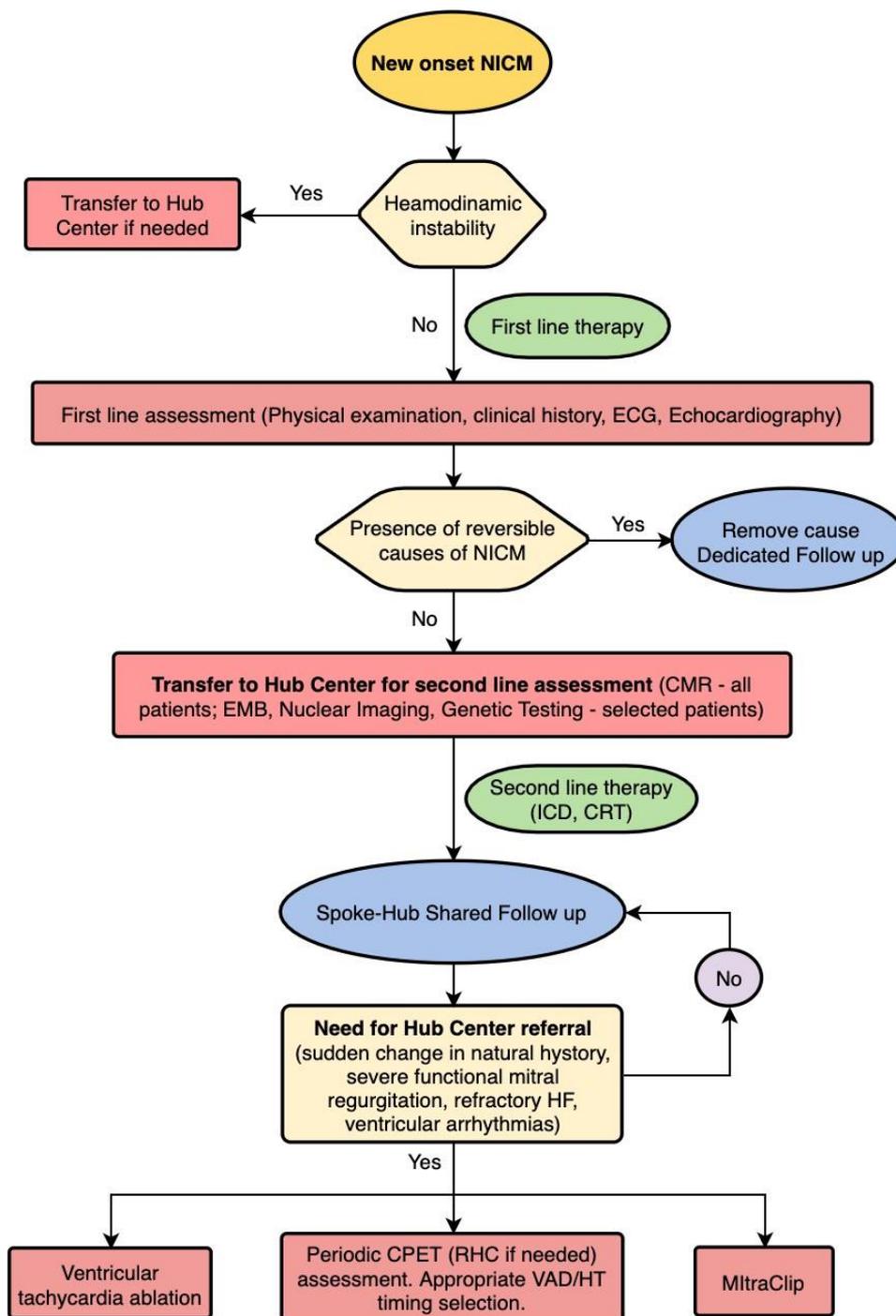


Figura 1 - Percorso ideale di un paziente NI-DCM dalla diagnosi al follow-up a lungo termine, condiviso tra i centri periferici e di riferimento (14).

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 II) 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.

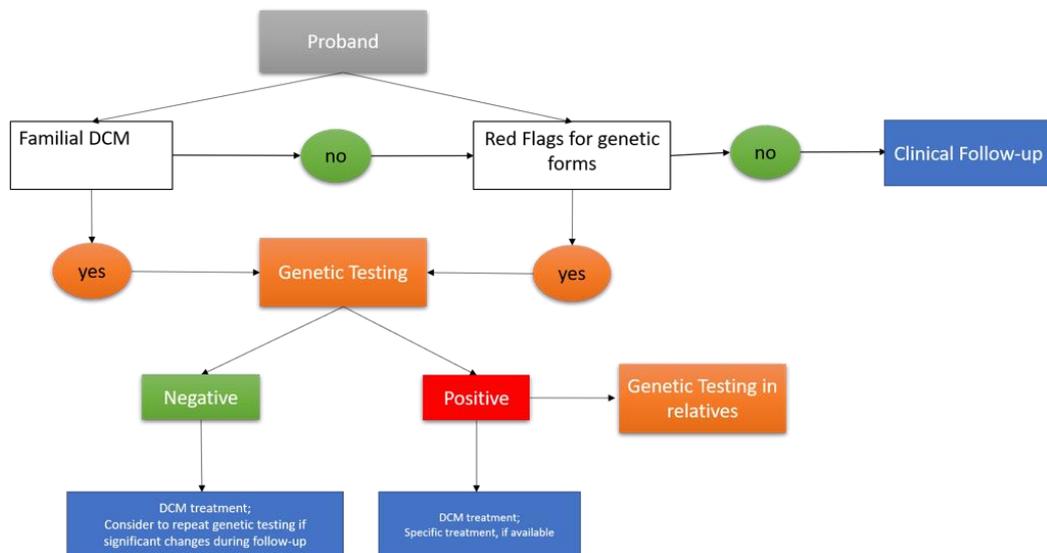


Figura 2 Indicazioni per i test genetici in probandi e parenti con sospetta NI- DCM genetica (14).

Red flags: disturbi di conduzione, aritmie ventricolari maggiori, storia familiare di SCD, segni clinici e strumentali suggestivi per distrofie muscolari. Familial DCM: anamnesi comprensiva di almeno 3 generazioni. La CMD viene definita familiare: 1) in presenza di due o più individui affetti in una famiglia; 2) in presenza di un parente di primo grado di un paziente con CMD, che abbia avuto una morte improvvisa, documentata ed inaspettata ad un'età < 35 anni.(2)

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. È indicato effettuare i test genetici nei parenti di primo grado previa consulenza genetica. Qualora non venga fatto lo screening genetico nei familiari di 1° grado, risulta sicuramente utile avviare follow up ecocardiografico periodico (ogni 2-3 anni) a partire dai 10-12 anni di età.

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 a 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 incuneamento ≥ 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 %.

- **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: 1) 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); 2) 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; 3) 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 l'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 neurosensoriale dell'udito. 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 difetti nel sistema di conduzione; alcuni di questi individui possono progredire verso la "fase clinica", caratterizzata da dilatazione e riduzione della frazione d'eiezione (16). La clinica può 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 abbiano 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).

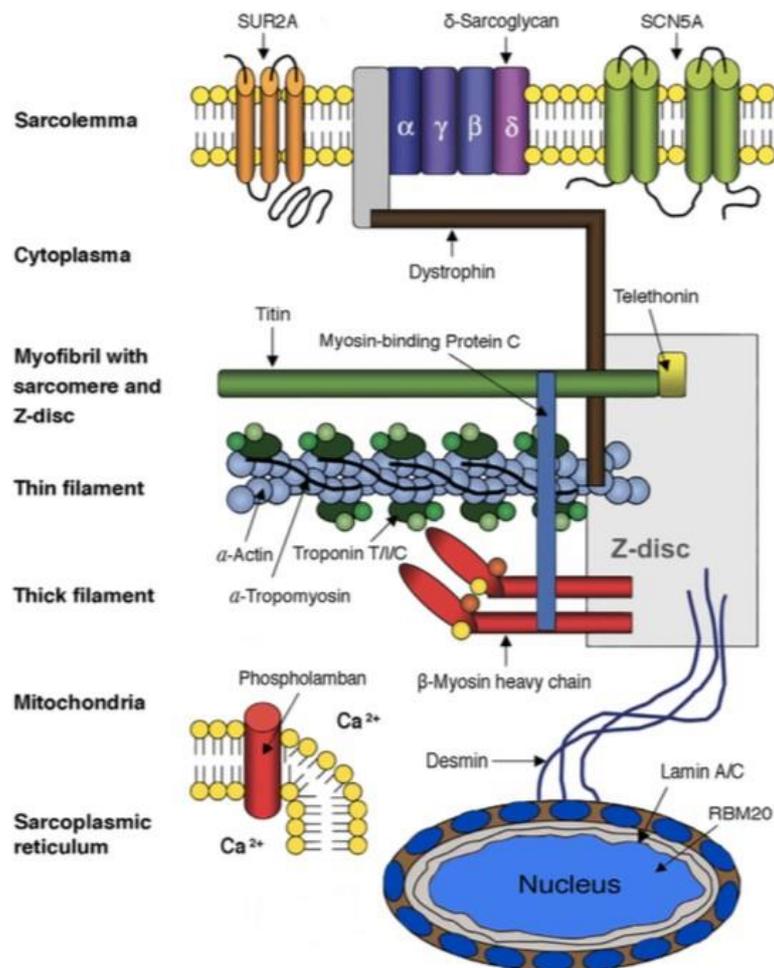


Figura 3 - Gruppi genetici funzionali

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 della TTN sono la causa più comune di CMD e 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 dei filamenti intermedi 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% della CMD genetica (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).

CMD 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. Questi geni hanno precedentemente dimostrato di essere coinvolti nella CMD e nelle aritmie (16).

CMD secondaria a proteine misfolded

Sono state recentemente identificate in pazienti con CMD nuove mutazioni nel gene della presenilina. La presenilina contribuiscono insieme ad altre proteine a formare il complesso della γ -secretasi, il quale agisce su diversi substrati inclusa la proteina precursore dell'amiloide (APP).

Le mutazioni dei geni delle preseniline sono state associate ad un'alterazione della proteolisi di APP con conseguente accumulo di depositi di amiloide nell'encefalo. Circa 50 preseniline sono espresse anche nel cuore e giocano un ruolo nel suo sviluppo.

Depositi di amiloide sono stati evidenziati con colorazioni specifiche in più del 74% dei campioni di cuore di pazienti affetti da CMD e la loro presenza è stata confermata mediante microscopia elettronica sia nel citoplasma sia nel compartimento extracellulare, sia nella fase precoce che tardiva della cardiomiopatia, sottolineando il ruolo patogenetico della proteina misfolded nello sviluppo della CMD. Gli aggregati proteici hanno un impatto negativo sulla meccanica e sul trasporto del Ca dei miociti murini, supportando una conseguenza simile anche sui miociti umani. Gli oligomeri inducono un aumento del picco di Ca sistolico intracellulare il quale porta a disfunzione e morte del miocita.

L'aumento di Ca citosolico in un miocardio disfunzionale è accoppiato a deplezione di Ca nel reticolo sarcoplasmatico il quale favorisce ulteriore misfolding proteico. Infine le preseniline sono coinvolte nel controllo del ciclo del Ca, infatti interagiscono con SERCA2b riducendone la funzione. Le varianti di preseniline recentemente identificate inoltre formano un immunoprecipitato con SERCA2a suggerendo che le varianti delle preseniline potrebbero essere accompagnate a un difetto funzionale di SERCA2a e un'alterazione dell'omeostasi del Ca e delle performance cellulari. (16)

CMD secondaria a un difetto del pathway RAS-MAPK

Le RASopatie sono un gruppo di patologie secondarie a mutazioni in geni codificanti il pathway RAS-MAPK. Esse presentano un importante coinvolgimento cardiaco in senso ipertrofico. Sono state identificate però nuove mutazioni in un gene di tale pathway, RAF-1, responsabili di forme di CMD non sindromica ad esordio infantile. (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 (uomini 66% e donne 34%) 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 (20%) pazienti e altri 130 (27%) hanno ricevuto l'impianto ICD.

Fino al 2015, anno di questo studio, i limiti tecnologici avevano ostacolato il ruolo 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 correlati alla 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 in mutazioni di malattia (malattie del muscolo cardiaco e canalopatie) presenti nel database delle mutazioni del genoma umano (HGMD) e consistono in mutazioni non sinonime ovvero inserzioni o delezioni che implicano frameshift, mutazioni in siti di splicing o mutazioni start/stop. La stessa definizione è stata applicata per la categoria Ib, dove hanno rimosso ulteriormente le varianti presenti nelle 4300 persone della coorte europeo-americana del database NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP).

Come categoria II hanno incluso tutte le varianti di troncamento proteico non comuni, ovvero inserzioni/delezioni, mutazioni di splicing o varianti start / stop.

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

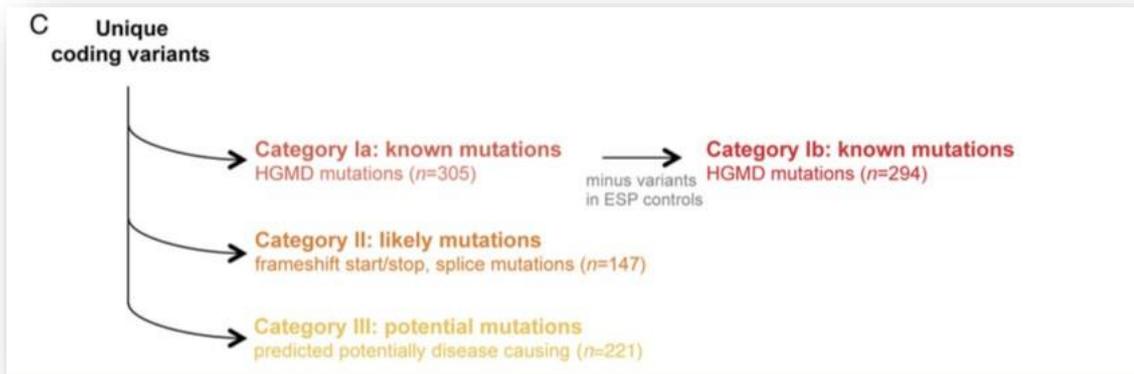


Figura 4 - Panoramica della classificazione delle varianti. Il numero totale di pazienti nell'intera coorte è indicato tra parentesi (5).

Distribuzione delle mutazioni in pazienti con CMD

In totale, sono state identificate 8269 varianti genetiche uniche, arrivando fino a 359.669 varianti nella regione target investigata nei 639 pazienti. In media, ogni paziente presenta 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 precedentemente segnalata come patogenetica. 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 sono causati da varianti rare o private, le quali non sono ancora presenti in database come HGMD, hanno successivamente cercato in tutti i pazienti mutazioni "probabili" (categoria II). Le mutazioni "probabili" includono inserzioni/delezioni, mutazioni frame shift, mutazioni non senso (stop) con guadagno o perdita di funzione e mutazioni del sito di splicing all'interno dei geni bersaglio.

Oltre alle varianti della categoria Ia, l'analisi ha rilevato la presenza di inserzioni con conseguente frameshift (scorrimento della finestra di lettura) in tre diversi geni in 13 pazienti e delezioni in 10 geni CMD che coprono un totale di 37 pazienti.

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

Complessivamente, hanno trovato 117 varianti patogene altamente "probabili" precedentemente non note in 26 geni in 147 pazienti (23%).

Per cercare le "potenziali" mutazioni patogenetiche (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 causative. 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). Condizioni di eterozigosi composta sono stati trovate in 49 (7%) pazienti e mutazioni eterozigote 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 note 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 presenti nel database HGMD (categoria Ib), un'ampia porzione di mutazioni responsabili di malattia è nota essere causa di cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro (ARVC) (31%), cardiomiopatia ipertrofica (16%) o canalopatie (6%), indicando una marcata sovrapposizione non solo dei geni responsabili della malattia, ma anche di mutazioni specifiche delle cardiomiopatie.

Tutti i geni studiati in questo studio sono stati classificati secondo le differenti 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 di cardiomiopatia dilatativa 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). Per esempio, il tasso di pazienti portatori di una variante nel gene TNN va da 0.56 in pazienti olandesi a 0.20 in pazienti tedeschi ($P < 0.001$, regressione logistica). Tuttavia, le frequenze di mutazione nei 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.

Discussione

I dati riportati hanno fatto luce sulla distribuzione dei geni, il numero di mutazioni e il carico mutazionale dei pazienti con CMD. La next-generation sequencing è una tecnologia emersa come rapida alternativa al sequenziamento di Sanger, fornendo le caratteristiche analitiche per la ricerca globale dei meccanismi genetici. Grazie a una miglior accuratezza, efficienza e un minor costo, NGS sta diventando il solo standard per il sequenziamento genico. Lo studio ha dimostrato un'elevata precisione analitica e coerenza in una grossa coorte di pazienti, confermando come NGS sia già adatta ad essere applicata nella diagnostica clinica di routine (5).

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 prospettica 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 al Royal Brompton Hospital di Londra (15 su 863 di età inferiore ai 18 anni) e 177 presso la Singapore Biobank al 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 varianti rare (frequenza <0,001 in ExAC) in 56 geni putativi di CMD, e con il set di dati di riferimento Exome Aggregation Consortium (ExAC). Gli 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. La presenza delle varianti troncanti in VCL e delle varianti non troncanti in TPM1, LMNA e TNNT2 era unica 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%.

Per geni come MYH7 o LMNA, nonostante si conosca che le varianti patogenetiche abbiano un'elevata penetranza in CMD familiari e siano utili per la gestione clinica, costituiscono entrambi una bassa frazione eziologica per le varianti non troncanti in aggregazione in quanto presenti come varianti rare benigne nella popolazione generale.

Al contrario, varianti troncanti di TTN sono molto probabilmente patogenetiche quando evidenziate in un paziente con CMD ma hanno dimostrato di avere una penetranza ridotta nella popolazione.

Discussione

Le varianti piú rilevanti per i test genetici risultano essere: varianti troncanti in TTN, DSP, LMNA, BAG3 e VCL e non troncanti in MYH7, TNNT2, TNNC1, LMNA e TPM1. Analizzanti varianti troncanti e non troncanti in associazione anche ACTC1, NEXN a PLN sono state associate a CMD. BAG3 è uno dei geni piú recenti implicati nella CMD e non era stato identificato nei precedenti studi.

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 concordando con l'indicazione ad eseguire un test genetico in pazienti con caratteristiche predittive di eziologia monogenica.

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. Gli outcome dello studio erano: 1) tutte le cause di mortalità 2) mortalità per insufficienza cardiaca, trapianto cardiaco per insufficienza refrattaria, LVAD per insufficienza refrattaria 3) morte cardiaca improvvisa, tachicardia ventricolare sostenuta, fibrillazione ventricolare.

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.

Sono stati analizzati 487 pazienti con CMD, inclusi 429 probandi (88%): 329 (68%) pazienti americani, 158 (32%) italiani.

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%).

Durante il follow up durato in media 125 mesi (10,4 anni), 131 pazienti sono deceduti per altre cause (27.5%), 105 sono deceduti per insufficienza cardiaca/hanno ricevuto un trapianto cardiaco/LVAD (21.5%) e 98 sono andati incontro a morte cardiaca improvvisa/TV sostenuta/FV (20.1%). L'analisi attraverso la curva di Kaplan-Meier ha mostrato un tasso di sopravvivenza simile tra i pazienti varianti-negativi e varianti-positivi ($p=0.99$). Più specificamente però, in un'analisi comparata del rischio, vi è una maggiore incidenza cumulativa di morte per insufficienza cardiaca/trapianto/LVAD ($p=0.061$) e morte cardiaca improvvisa/TV/FV ($p=0.062$) nel gruppo di pazienti variante-positivi rispetto al gruppo variante-negativi.

I soggetti con mutazioni di LMNA hanno mostrato una maggior occorrenza di morte per insufficienza cardiaca/trapianto/LVAD ($p<0.001$) e morte cardiaca improvvisa/TV/FV ($p=0.002$). Curiosamente i portatori di varianti desmosomiali hanno mostrato un tasso di eventi aritmici maggiore rispetto sia i pazienti variante-negativi ($p=0.006$) sia i rimanenti portatori di varianti ($p=0.015$), con un rischio comparabile al sottogruppo LMNA positivi. Il gruppo portatore di mutazioni desmosomiali presenta nel 13% dei casi disfunzione sistolica del VD e la FE del VS media è $32\pm 10\%$. In ogni caso, gli eventi aritmici non risultano essere correlati con la severità della disfunzione ventricolare in quanto le curve di sopravvivenza sono simili per pazienti con $FE>35\%$ e $\leq 35\%$.

In conclusione quindi 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 indipendentemente dalla disfunzione del VS, 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

MATERIALI E 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 utilizzando un pannello di geni noti per essere associati allo sviluppo di CMD e valutare successivamente eventuali correlazioni genotipo-fenotipo.

Metodi

I metodi del progetto sono stati condivisi con i colleghi dell'Ambulatorio dello Scompenso Cardiaco e Cardiomiopatie di Trieste, il quale rappresenta un centro di riferimento internazionalmente riconosciuto in ambito di CMD idiopatiche e geneticamente determinate. Abbiamo incontrato i colleghi nel dicembre 2019 e definito con loro i criteri di selezione dei pazienti da candidare a test genetico 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 Aprile 2020 secondo i criteri d'inclusione ed esclusione sottoelencati con lo scopo di estrapolare quella quota di pazienti affetti da CMD "idiopatica".

Vengono quindi esclusi i pazienti con CMD verosimilmente secondaria alle principali eziologie note per predisporre allo sviluppo della patologia. Non vengono considerati 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.

CRITERI DI INCLUSIONE

- Et  di esordio della malattia < 65 anni
- Disponibilit  nella cartella clinica dei seguenti esami strumentali:
 - Ecocardiografia transtoracica
 - Angiografia coronarica
- Diagnosi di CMD con i seguenti criteri:
 - Diametro telediastolico (DTD) > 117% per et  e superficie corporea (oppure DTD > 55)
 - Frazione d'ieiezione del ventricolo sinistro (FEVS) < 45% e/o una frazione di accorciamento < 25% alla diagnosi

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 04/2020 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 04/2020 sono 620 e su questo numero abbiamo svolto il nostro progetto. Sono stati esclusi tutti i pazienti con CMD secondaria secondo i criteri di esclusione (vedi sopra) e quindi selezionati i pazienti con età di esordio della malattia <65 anni e CMD idiopatica con e senza familiarità per cardiomiopatia dilatativa/morte cardiaca improvvisa. La coorte selezionata è composta da 65 pazienti e il prelievo per l'esecuzione del test genetico è stato effettuato a 62.

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

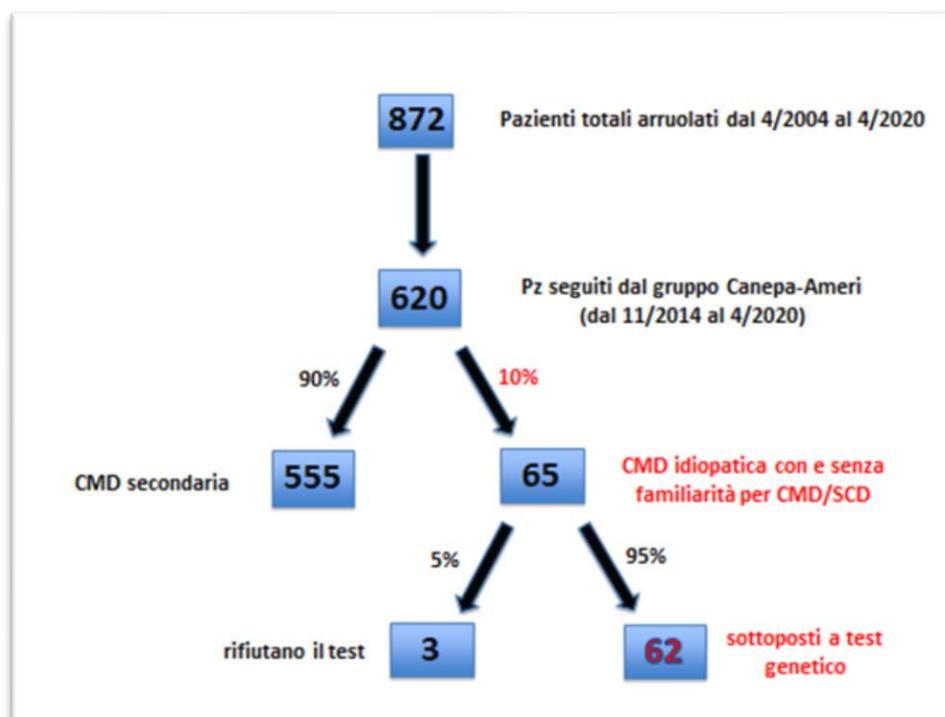


Figura 5 - Schema riassuntivo della selezione dei pazienti

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 alle implicazioni clinico-diagnostiche del risultato e successivamente hanno firmato il consenso.

Il prelievo è stato effettuato presso l'Ambulatorio dello Scompenso Cardiaco dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino.

Test genetico

Il test genetico è stato eseguito presso U.O.C Laboratorio di Genetica Umana dell'Istituto G. Gaslini e la tecnica di sequenziamento utilizzata è NGS (Next generation Sequencing).

Il sequenziamento Sanger è stato utilizzato per la conferma delle eventuali varianti patogenetiche (sensibilità e specificità analitiche del sequenziamento Sanger >99%).

Il database e i programmi di riferimento sono: Human Reference Genome hg19, HGMD, Alamut (v2.10, dbSNP151), Varsome.

Geni sequenziati (48 geni di cui i 22 in rosso rappresentano il 97% delle mutazioni genetiche correlate alla CMD):

ABCC9, **ACTC1**, ACTN2, ALMS1, ANKRD1, **BAG3**, CALR, CRYAB, CSRP3, CTF1, **DES**, **DMD**, **DSC2**, **DSG2**, **DSP**, EYA4, **FLNC**, GATAD1, GLA, JPH2, **JUP**, **LAMA4**, LAMP2, **LDB3**, **LMNA**, **MYBPC3**, **MYH7**, MYL2, MYL3, MYOM1, MYPN, **NEXN**, PDLIM3, **PKP2**, **PLN**, **RBM20**, **SCN5A**, TAZ, TCAP, **TMEM43**, TMPO, TNNC1, TNNI3, **TNNT2**, TPM1, **TTN**, TTR, VCL

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, MYOM1 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 - 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)
miomesina 1 (MYOM1)
Geni della membrana nucleare
Laminina A/C (LMNA)
Timopoiatina (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)

Geni del disco-Z
Atenogene 3 associato BCL2 (BAG3)
Teletonina (TCAP)
α -B-crystallina (CRYAB)
Proteina muscolare LIM (CSRP3)
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.

RISULTATI

Nello studio sono stati inclusi un totale di 65 pazienti affetti da CMD idiopatica, le cui caratteristiche principali sono sintetizzate nella Tabella 2. L'età media alla valutazione indice è di 52 anni con una prevalenza di soggetti di sesso maschile (69%). La maggior parte dei pazienti è in classe NYHA (New York Heart Association) I (70%), mentre il ritmo all'ECG è nella maggior parte dei casi un ritmo sinusale (89%). Sono presenti i seguenti fattori di rischio cardiovascolare: obesità (25%), dislipidemia (45%), fumo (63%), ipertensione arteriosa (42%), anamnesi positiva per consumo di alcol (14%) e droghe (8%). 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 alla diagnosi pari a 29%, attuale 40% e un diametro telediastolico (DTD) medio di 58,06. 28 pazienti hanno eseguito la RM cardiaca. Il trattamento include β -bloccanti (98%) e inibitori della conversione dell'angiotensina / bloccanti del recettore dell'angiotensina (52%), antialdosteronici (66%) e diuretici (54%). Il 43% dei pazienti è in terapia con il farmaco Sacubitril/Valsartan. Il 20% ha ricevuto una terapia di risincronizzazione cardiaca con CRT-D e il 15% ha impiantato un defibrillatore automatico impiantabile (ICD). Il 66% dei pazienti ha avuto almeno un ricovero per scompenso cardiaco. Il 30% mostra all'ECG holter un episodio di TVNS.

I pazienti sottoposti a prelievo sono 62. L'età media è 51 anni alla visita indice e il 71% sono di sesso maschile. Per quanto riguarda la classe funzionale NYHA, il 69% è in NYHA I, il 27% è in NYHA II mentre il 3% in NYHA III. Il ritmo all'ECG è nel 88% ritmo sinusale. Presentano fattori di rischio cardiovascolare: obesità (23%), dislipidemia (45%), fumo (61%), ipertensione arteriosa (39%). Il 30% dei pazienti presenta una certa familiarità per CMD e il 18% per morte improvvisa. All'ecocardiografia presentano una frazione di eiezione ventricolare sinistra media alla diagnosi del 29% e attualmente del 40%; inoltre il diametro telediastolico (DTD) medio è 58,2. Il 44% ha eseguito una RM cardiaca. Il trattamento include β -bloccanti (98%), inibitori della conversione dell'angiotensina / bloccanti del recettore dell'angiotensina (53%), antialdosteronici (68%) e diuretici (55%). Il 42% dei pazienti è in terapia con il farmaco Sacubitril + Valsartan.

Il 21% ha ricevuto una terapia di risincronizzazione cardiaca con CRT-D e il 15% ha impiantato un defibrillatore automatico impiantabile (ICD). Il 68% dei pazienti ha avuto almeno un ricovero per scompenso cardiaco. Il 32% mostra all'ECG holter un episodio di TVNS.

I pazienti di cui abbiamo il risultato del test genetico sono 51. L'età media è 51 anni alla visita indice e il sesso maschile rappresenta il 67%. Per quanto riguarda la classe funzionale NYHA, i pazienti sono principalmente in NYHA I (69%), NYHA II (27%) e NYHA III (4%). Il ritmo all'ECG è nell'88% dei pazienti un ritmo sinusale, nel 12% una fibrillazione atriale e nel 16% un ritmo da stimolazione da PM. Presentano fattori di rischio cardiovascolare: obesità (25%), dislipidemia (43%), fumo (59%), ipertensione arteriosa (37%), anamnesi positiva per il consumo di alcolici (12%) e droghe (8%). Il 31% dei pazienti presenta una certa familiarità per CMD e il 18% per morte cardiaca improvvisa. All'ecocardiografia presentano una frazione di eiezione ventricolare sinistra alla diagnosi del 28% e attuale del 40%. Presentano un diametro telediastolico (DTD) medio di 58,25. Il 43% ha eseguito una RM cardiaca. Il trattamento include β - bloccanti (100%), inibitori della conversione dell'angiotensina / bloccanti del recettore dell'angiotensina (53%), antialdosteronici (67%) e diuretici (53%). Il 41% dei pazienti è in terapia con il farmaco Sacubitril + Valsartan. Il 22% ha ricevuto una terapia di risincronizzazione cardiaca con CRT-D e il 16% ha un ICD impiantato. Il 67% ha avuto almeno un ricovero per scompenso cardiaco. Il 33% mostra all'ECG holter un episodio di TVNS.

Tabella 2 - Caratteristiche della popolazione presa in esame

	Inclusi nello studio N = 65	Già sottoposti al test N = 62	Risultati N = 51
Età media	52	51	51
Sesso (%)			
Maschi	45 (69%)	44 (71%)	34 (67%)
Femmine	20 (31%)	18 (29%)	17 (33%)
Classificazione NYHA (%)			
NYHA I	46 (70%)	43 (69%)	35 (69%)
NYHA II	17 (26%)	17 (27%)	14 (27%)
NYHA III	2 (3%)	2 (3%)	2 (4%)
Ritmo ECG (%)			
RS	58 (89%)	55 (88%)	45 (88%)
FA	7 (11%)	7 (12%)	6 (12%)
Stimolazione da PM	10 (15%)	9 (15%)	8 (16%)
Fattori di rischio (%)			
Obesità	16 (25%)	14 (23%)	13 (25%)
Dislipidemia	29 (45%)	28 (45%)	22 (43%)
Fumo	41 (63%)	38 (61%)	30 (59%)
Ipertensione	27 (42%)	24 (39%)	19 (37%)
Alcol	9 (14%)	9 (15%)	6 (12%)
Droghe	5 (8%)	5 (8%)	4 (8%)
Famigliarità (%)			
CMD	19 (29%)	19 (30%)	16 (31%)
SD	11 (17%)	11 (18%)	9 (18%)
Dispositivi impiantati (%)			
CRT-D	13 (20%)	13 (21%)	11 (22%)
ICD	10 (15%)	9 (15%)	8 (16%)
Ematochimici			
Creatinina media	0,95	0,95	0,96
NT-proBNP medio	552,04	568,08	566,96
BNP medio	115,18	115,18	101,63
Ecocardiografia			
DTD medio	58,06	58,2	58,25
FE medio	40%	40%	40%

Tabella 3 - Caratteristiche della popolazione presa in esame

Esami strumentali (%)			
Coronarie indenni	63 (97%)	60 (97%)	50 (98%)
RM	28 (43%)	27 (44%)	22 (43%)
Terapia (%)			
ACE/ARB	34 (52%)	33 (53%)	27 (53%)
Sacubitril/Valsartan	28 (43%)	26 (42%)	21 (41%)
β -bloccante	64 (98%)	61 (98%)	51 (100%)
Antialdosteronico	43 (66%)	42 (68%)	34 (67%)
Diuretico	35 (54%)	34 (55%)	27 (53%)
Amiodarone	6 (9%)	6 (10%)	6 (12%)

Dei 65 pazienti che sono stati inclusi nello studio, il prelievo è stato effettuato in 62 pazienti e fino ad oggi abbiamo ricevuto 51 risultati:

- 16 (31%) pazienti sono risultati negativi;
- 35 (69%) pazienti sono risultati positivi.

Nei pazienti risultati positivi sono state evidenziate sia varianti patogenetiche certe (18 pazienti, 35%) sia varianti a significato clinico incerto (17 pazienti, 33%)

Le varianti patogenetiche sono state trovate in 8 geni:

TTN 8 pazienti (44%)

LMNA 3 pazienti (17%)

MYH7 2 pazienti (11%)

FLNC 1 paziente (5%)

DSP 1 paziente (5%)

DMD 1 paziente (5%)

SCN5A 1 paziente (5%)

ABCC9 1 paziente (5%)

In particolare:

- TTN (*variante c.12873 in eterozigosi*)
- TTN (*variante c.50428C*) e SCN5A (*variante c.659C>T*)
- TTN (*variante c.74761C>T in eterozigosi*)
- TTN (*variante c.67790C>A in eterozigosi*)
- TTN (*variante c.37228G>T in eterozigosi*)
- TTN (*variante c.49815del in eterozigosi*)
- TTN (*variante c.45326-1G>A*)
- TTN (*variante c.49815del in eterozigosi*)
- LMNA

- LMNA
- LMNA (*variante c.369G>T*)
- FLNC (*variante c.6208G>A in eterozigosi*)
- DMD (*emizigosi per delezione esone 48-53*)
- DSP (*variante c.5800C>T in eterozigosi*)
- ABCC9 (*variante c.470_4572delinsAAAT in eterozigosi*)
- SCN5A (*variante c.3784G>A*)
- MYH7 (*variante c.2508C>G*)
- MYH7 (*variante c.3157C>T*)

Tabella 4 – schema varianti patogenetiche e a significato incerto

Gruppi genetici funzionali	Quantità varianti	Varianti	Zigosità
Geni del sarcomero			
TTN	8	- c.12873 - c.50428C - c.74761C>T - c.67790C>A - c.37228G>T - c.49815del - c.45326-1G>A - c.49815del	Eterozigote Eterozigote Eterozigote Eterozigote Eterozigote Eterozigote Eterozigote Eterozigote
MYBPC3	3	- c.2497G>A - c.1037G>A - c.2149-5C>T	Eterozigote Eterozigote Eterozigote
MYH7	4	- c.3157C>T - c.2508C>G - c.896-4C>G - c.4772T>A	Eterozigote Eterozigote Eterozigote Eterozigote
MYL2	0		
TNNC1	0		
TNNT2	2	- c.113C>T - c.91G>A	Eterozigote Eterozigote
TNNI3	1	c.88G>A	Eterozigote
TPM1	0		
ACTC1	0		
MYOM1	2	- c.74C>A - c.580A>C	Eterozigote Eterozigote
Geni della membrana nucleare			
LMNA	3	- c.369G>T	Eterozigote
TMPO	0		
Geni strutturali del citoscheletro			
FLNC	5	- c.1492A>G - c.6208G>A - c.2636G>A - c.2491G>A e c.6673T>C	Eterozigote Eterozigote Eterozigote Eterozigote
DES	2	- c.216C>A - c.638C>T	Eterozigote Eterozigote
PDLIM3	0		
VCL	1	- c.1247G>A	

Tabella 5 – schema varianti patogenetiche e a significato incerto

Geni del complesso della distrofina			
DMD	6	- c.6571C>T - del esone 48-53 - c.8234T>C e c.8995G>C - c.733A>G - c.1095A>C	Emizigote Emizigote Emizigote Emizigote Emizigote
ILK	0		
Geni del disco-Z			
NEXN	1	- c.1419_1421del	Eterozigote
LDB3	1	- c.47G>A	Eterozigote
MYPN	1	- c.625_627delTCT	Eterozigote
ACTN2	0		
BAG3	0		
TCAP	0		
CRYAB	0		
CSRP3	0		
MURC	0		
Geni del desmosoma			
DSP	2	- c.3282G>C - c.6208G>A	Eterozigote Eterozigote
DSC2	0		
DSG2	1	- c.1781T>C	Eterozigote
PKP2	0		
JUP	2	- c.56C>T - c.2207C>T	Eterozigote Eterozigote
Geni del canale ionico			
ABCC9	1	- c.470_4572delinsAAAT	Eterozigote
SCN5A	3	- c.659C>T - c.3784G>A - c.4999G>A	Eterozigote Eterozigote Eterozigote
Geni del nucleo			
EYA4	0		
GATAD1	0		
RBM20	0		
TMEM43	1	- c.578C>T	Eterozigote

Tabella 6 – schema varianti patogenetiche e a significato incerto

Geni del reticolo sarcoplasmatico e del citoplasma			
CALR3	0		
JPH2	0		
PLN	1	- c.159A>C	Eterozigote
PRKAG2	0		
Altri geni			
ALMS1	3	- c.2207C>T - c.9709C>T - c.2681 del TGA	Eterozigote Eterozigote Eterozigote
GLA	0		
LAMP2	0		
LAMA4	2	- c.3468G>T - c.5315G>A	Eterozigote Eterozigote
TAZ	0		
TTR	0		

A causa della pandemia Covid19 che ha colpito l'Italia e tutto il mondo, siamo stati sicuramente rallentati nell'esecuzione dei prelievi e nell'effettuazione del test genetico, in quanto sono stati chiusi per alcuni mesi l'Ambulatorio dello Scenpense Cardiaco dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino e il Laboratorio di Genetica Umana dell'IRCCS Istituto Giannina Gaslini. L'approvvigionamento dei reagenti a questo laboratorio è stato anch'esso compromesso, allungando ulteriormente i tempi di processazione e refertazione del test genetico.

DISCUSSIONE

Lo studio prevede l'esecuzione di 62 prelievi di sangue e su questi dati globali sarà valutato il rendimento diagnostico del test genetico.

Allo stato attuale siamo riusciti ad ottenere 51 dei 62 risultati. I dati saranno analizzati in modo integrato una volta che saranno concluse tutte le analisi genetiche.

Relativamente ai 51 prelievi, 35 pazienti (68%) risultano avere un qualche substrato genetico della malattia di cui 18 (35%) con una base patogenetica certa.

Nonostante non sia ancora possibile stabilire il reale rendimento diagnostico del test genetico, si può affermare che il 35% dei nostri pazienti identificati come affetti da CMD idiopatica secondo gli attuali standard diagnostici presenti un'eziologia genetica alla base della patologia miocardica.

Il risultato del test genetico offre una diagnosi eziologica al probando: nonostante ciò, per molti pazienti con CMD, l'identificazione di una variante patogenetica non modifica profondamente il management clinico della malattia; questo, come approfondito in seguito, avviene solo per alcune varianti specifiche in cui la diagnosi molecolare potrebbe significativamente modificare le decisioni terapeutiche. (19)

La valenza del test genetico si esplica anche nell'identificazione di familiari asintomatici a rischio di sviluppare la malattia, permettendo la razionalizzazione dello screening familiare e del follow-up: in caso di positività del probando viene offerta la possibilità di effettuare uno screening prima clinico e poi genetico nei familiari di primo grado, previa consulenza genetica. Qualora si decidesse di non procedere con lo screening genetico nei familiari di primo grado, risulta utile avviare un follow-up elettrocardiografico ed ecocardiografico periodico (ogni 2-3 anni) a partire dai 10-12 anni di età al fine di individuare segni precoci di disfunzione contrattile.

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. Il probando deve essere informato della possibilità di una ridefinizione della patogenicità della variante nel tempo.

Il risultato del test genetico è stato discusso con tutti i pazienti, ed ove necessario pazienti e familiari sono stati indirizzati a colloquio con il consulente genetista, al fine di chiarire eventuali dubbi ove questi fossero insorti.

La cardiomiopatia dilatativa è una patologia diffusa e responsabile anche di morte cardiaca improvvisa; nonostante i progressi terapeutici, la mortalità rimane comunque elevata e risulta essere la prima causa di trapianto cardiaco. (20)

La frazione d'eiezione del ventricolo sinistro ha sempre rappresentato il principale fattore di rischio aritmico causa di morte cardiaca improvvisa (MCI), tanto che le linee guida europee e americane raccomandano l'impianto di un defibrillatore (ICD) in prevenzione primaria nei pazienti NYHA II-III con FEVS $\leq 35\%$ dopo almeno 3 mesi di terapia ottimizzata. Il defibrillatore impiantabile (ICD) si è dimostrato molto efficace nella prevenzione primaria della MCI, tuttavia la presenza di una severa depressione della FE è un marker carente di specificità nel differenziare il rischio di MCI rispetto a quello di morte per evoluzione di scompenso cardiaco o per comorbidità e manca anche di sensibilità in quanto molti casi di morte improvvisa hanno una FE normale o solo moderatamente depressa. Di fatto la maggior parte dei pazienti sottoposti ad impianto di ICD, secondo i criteri delle attuali linee guida, non subiscono interventi appropriati dell'ICD nel corso del loro follow-up e quindi non hanno nessun beneficio dall'impianto, pur essendo esposti agli effetti indesiderati dell'ICD. È quindi convinzione abbastanza diffusa che la FE da sola sia un marker inadeguato per la stratificazione del rischio di MCI. Inoltre, considerando l'origine multifattoriale della MCI, è assai improbabile che un marker di rischio da solo possa raggiungere un'elevata accuratezza predittiva. Per superare questo problema è stato proposto l'utilizzo di combinazioni di test, aggiungendo alla valutazione della FE dei test che studino uno o più meccanismi alla base del fenomeno aritmico. (21) Questo vale ancora di più per i pazienti affetti da CMD idiopatica, o comunque non ischemica.

In linea con la medicina di precisione, sono stati creati algoritmi di predizione del rischio aritmico al fine di ottimizzare e personalizzare il management clinico del paziente con CMD: un approccio multiparametrico e multimodale è infatti fondamentale per individuare correttamente i pazienti che potrebbero beneficiare di un ICD indipendentemente dalla FEVS. Una strategia di stratificazione del rischio aritmico più complessa potrebbe migliorare l'appropriatezza degli impianti e ciò determinerebbe un notevole vantaggio sia nel rapporto costo-beneficio che nel rapporto rischio-beneficio. Va infine ricordato come la definizione del rischio non sia statica, ma possa evolvere nel tempo, rendendo necessaria la sua periodica rivalutazione a distanza di tempo in base all'evoluzione del quadro clinico. Ad esempio viene attualmente

suggerito di rinviare di 3-9 mesi l'impianto di un ICD nello scompenso cardiaco di recente diagnosi, per valutare se una terapia medica ottimale possa migliorare in modo significativo la disfunzione del ventricolo sinistro. (21)

I recenti progressi nell'imaging cardiaco e nel sequenziamento genetico hanno permesso l'identificazione di pazienti con CMD a maggior rischio di MCI e progressione a insufficienza cardiaca avanzata.(20) Al completamento degli esami genetici, rivaluteremo complessivamente i dati di risonanza magnetica disponibili nella nostra popolazione, e la loro correlazione con le mutazioni patogeniche e non riscontrate. Come è noto dalla letteratura, alcune varianti genetiche sono associate a un più elevato rischio aritmico, ovvero: mutazioni nonsense LMNA, mutazioni troncanti FLNC, varianti desmosomiali, RBM20, PLN, SCN5A.(18,20). La stratificazione del rischio aritmico è stata aggiornata sulla base di queste evidenze nei nostri pazienti con mutazioni a carico di questi geni.

Da un punto di vista scientifico è importante che le informazioni genetiche 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. 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 in particolare 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 e di offrire un completamento diagnostico e un ulteriore strumento per la stratificazione del rischio aritmico ai pazienti affetti da CMD idiopatica in Liguria.

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. Goldman, L., Schafer, A.I. (2017). *Goldman-Cecil Medicina Interna*. Trento: Edra)
8. Honigberg MC, Givertz MM. Peripartum cardiomyopathy. *BMJ*. 30 gennaio 2019;k5287.
9. Rugarli. *Medicina interna sistematica*. 7° ed. Edra Masson; 2015.
10. Robbins e Cotran. *Le basi patologiche delle malattie. Patologia generale*. 10° ed. 2016.
11. Harrison. *Principi di medicina interna*. 19° ed. 2016.
12. McNally EM, Mestroni L. Dilated Cardiomyopathy. :18.
13. 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.
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. Mazarotto 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.
19. Diane Fatkin, MD, Inken G. Huttner, MD, Jason C. Kovacic, MD, PHD, J.G. Seidman, PHD, Christine E. Seidman, MD, Precision Medicine in the Management of Dilated Cardiomyopathy. *JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY*. 2019;74:2921–38
20. Benjamin A. Marrow, MB, CHB, Stuart A. Cook, MD, Sanjay K. Prasad, MD, Gerry P. McCann, MD, Emerging Techniques for risk Stratification in Nonischemic Dilated Cardiomyopath. *JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY*. 2020;75:1196–207
21. Marcello Disertori (Chairman), Michele M. Gulizia, Giancarlo Casolo, Pietro Delise, Andrea Di Lenarda, Giuseppe Di Tano, Maurizio Lunati, Luisa Mestroni, Jorge A. Salerno-Uriarte, Luigi Tavazzi, Considerazioni su una valutazione poliparametrica nella stratificazione del rischio di morte improvvisa per l'indicazione all'impianto di cardioverter-defibrillatore in prevenzione primaria, nella disfunzione ventricolare sinistra di origine ischemica e non ischemica. Position paper dell'Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri (ANMCO). *G Ital Cardiol* 2015;16(11):651-666

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il *professor Italo Porto*, mio relatore, che con attenzione ha supportato il mio lavoro.

Ringrazio il *professor Marco Canepa* per avermi coinvolto in questo progetto, per avermi insegnato molto e trasmesso sempre passione per il proprio lavoro.

Ringrazio *Giulia* per l'immensa disponibilità e gentilezza.

Ringrazio i miei amici e la mia famiglia per il supporto durante questi lunghi anni, in particolare mia sorella *Irene*, sempre pronta ad aiutarmi, a sostenermi e a ricordarmi nei momenti di difficoltà la ragione per cui ho deciso di intraprendere questo percorso.

Ringrazio la mia amica *Irene*; abbiamo percorso insieme questi 6 anni, condiviso ogni esame, ogni ansia, ogni questione burocratica, ogni crisi. Insieme ce l'abbiamo fatta.

Infine ringrazio *Edoardo*, per starmi accanto e farmi sempre sorridere.