

Cosa sono le cardiomiopatie?

Le cardiomiopatie sono una classe di malattie del muscolo cardiaco, spesso geneticamente determinate con diverse modalità di trasmissione, che possono presentare sintomi che limitano la capacità funzionale del cuore e che comportano complicanze come fibrillazione atriale, scompenso cardiaco, stroke e, più raramente, aritmie ventricolari maligne e morte improvvisa.

I pazienti con i diversi tipi di cardiomiopatia (ipertrofica, dilatativa, aritmogena ventricolare destra, restrittiva) sono stimati in circa il 3 per mille della popolazione generale, ma purtroppo vengono all'attenzione del cardiologo solo in occasione di eventi gravi o mortali.

Le cardiomiopatie sono ereditarie?

Nei paesi sviluppati, la morte cardiaca improvvisa è responsabile di oltre il **5%** delle morti totali e di oltre il 50% della mortalità per malattie cardiovascolari. In Italia, si può stimare con buona approssimazione che l'incidenza di questo fenomeno sia intorno a 0.7/1000 abitanti/anno. La morte improvvisa si verifica nel **20-25%** dei casi in soggetti apparentemente sani, come prima manifestazione di una patologia sottostante misconosciuta. Il 5-10% dei casi di morte improvvisa si verifica in assenza di anomalie cardiache strutturali evidenti in cuori strutturalmente normali (morte improvvisa *sine materia*), in presenza di disordini elettrofisiologici che determinano un'instabilità elettrica responsabile dell'insorgenza di aritmie ventricolari, come nel caso della sindrome del QT lungo (LQTS), della sindrome di Brugada (BS), della tachicardia ventricolare polimorfa catecolaminergica (CPVT). In uno studio condotto dallo Steering Group britannico in 32 casi consecutivi di morte improvvisa aritmica *sine materia*, non selezionati per età, lo screening cardiologico dei parenti di primo grado ha svelato la presenza di una malattia cardiaca ereditaria nel 22% delle famiglie esaminate e in circa la metà dei casi si trattava di LQTS.

In un'analisi di Tan et al. condotta su 43 famiglie in cui si era verificato almeno un caso di morte improvvisa in età <40 anni, nel 40% dei casi lo screening cardiologico ha permesso di identificare una cardiopatia ereditaria (LQTS, CPVT, BS e cardiomiopatia aritmogena ventricolare destra ARVC). Uno studio più recente condotto in Inghilterra su 262 parenti (di cui il 70% di primo grado) appartenenti a 57 famiglie con almeno un caso di morte improvvisa, ha documentato una cardiopatia ereditaria nel 53% delle famiglie esaminate: nel 17% dei casi si trattava di una cardiopatia strutturale (ARVC, cardiomiopatia ipertrofica HCM, cardiomiopatia

dilatativa e ventricolo sinistro non compatto); nel restante 26% la diagnosi è stata di LQTS o di BS.

Il test CardioScreen[®]-Cardiomiopatie

CardioScreen-Cardiomiopatie[®] è un test diagnostico, sviluppato da GENOMA Group, che permette di eseguire un'analisi genetica multipla **per valutare la presenza di mutazioni associate alle cardiomiopatie ereditarie**. Il test, quindi, permette di identificare i pazienti a rischio genetico di eventi cardiaci potenzialmente mortali attraverso l'analisi del loro DNA.

Per chi è indicato il test CardioScreen[®]-Cardiomiopatie?

Il test di screening genetico per le cardiomiopatie ereditarie è indicato per coloro che hanno almeno un caso in famiglia di morte cardiaca improvvisa (compresa morte infantile improvvisa), scompenso cardiaco o trapianto, suggestivi di substrato patologico cardiaco ereditario. E' utile indagare, inoltre, i parenti delle vittime di morte accidentale in seguito a malori, ad esempio durante la guida di un veicolo, per valutare se l'evento è riconducibile a un episodio sincopale o a morte cardiaca improvvisa. L'analisi dell'albero genealogico incrociata allo screening genetico può fornire informazioni sulla modalità di trasmissione della cardiopatia ereditaria e del suo grado di penetranza nei diversi membri della famiglia. Lo screening genetico delle mutazioni associate alle cardiomiopatie ereditarie è utile per predisporre strategie di prevenzione affinché eventi gravi inattesi non si verifichino e non colpiscano altri membri della stessa famiglia.

E' inoltre di particolare utilità come strumento di prevenzione in caso di:

- Attività agonistica dilettantistica o professionistica, anche per soggetti che non hanno familiarità
- Soggetti giovani (minori di 40 anni) con sintomatologia cardiaca idiopatica
- Bambini e adolescenti con quadro clinico sospetto per anomalie del QT o del ritmo cardiaco

Il genetista, in accordo con il cardiologo, previo consenso informato dell'interessato, suggerirà se procedere o meno con lo screening genetico.

Quali sono i benefici del test **CardioScreen**[®]-Cardiomiopatie?

La possibilità di individuare i soggetti a rischio per cardiomiopatie ereditarie rappresenta oggi il miglior metodo per giungere ad una diagnosi precoce di una eventuale patologia e quindi per ridurre la mortalità e la morbilità relative. I membri di famiglie ad alto rischio ereditario, ed in particolare chi è colpito da sintomatologia cardiaca idiopatica, può richiedere una consulenza genetica e discutere con il genetista circa la propria situazione clinico-genetica. Tale valutazione potrà promuovere il test genetico per accertare se il paziente è portatore di una mutazione associata a cardiomiopatia ereditaria e arresto cardiaco improvviso. In caso di positività del test, l'accertamento potrà essere esteso ai familiari del paziente al fine di individuare i soggetti a rischio all'interno del nucleo familiare.

L'informazione ottenuta dal test genetico può apportare notevoli **benefici**, quali:

1. L'identificazione dei membri di una famiglia che sono ad **alto rischio di cardiomiopatia ereditaria**;
2. L'organizzazione di un adeguato **programma di controllo medico** riservato ai soggetti ad alto rischio, in maniera tale da facilitare l'adozione delle **più efficaci misure preventive** (ad esempio defibrillatori impiantabili o terapie farmacologiche antiaritmiche);
3. La conoscenza della possibilità di **trasmissione delle mutazioni geniche** alla progenie e l'individuazione dei soggetti figli, con mutazioni geniche germinali, ad alto rischio.

Come viene effettuato il test **CardioScreen**[®]-Cardiomiopatie?

Il test viene eseguito mediante il prelievo di un campione ematico. Tramite un'analisi complessa di laboratorio, il DNA viene isolato dalle cellule nucleate ed **amplificato mediante tecnica PCR**. Successivamente, attraverso un processo tecnologico avanzato di **sequenziamento massivo parallelo (MPS)**, che impiega tecniche di **Next Generation Sequencing (NGS)** utilizzando sequenziatori **ILLUMINA**, si sequenziano completamente, ad elevata profondità di lettura, **46 geni** (esoni e regioni introniche adiacenti, ± 5 nucleotidi) associati alle cardiomiopatie ereditarie (Tabella

1).

Le sequenze geniche ottenute vengono analizzate attraverso un'**avanzata analisi bioinformatica**, per determinare la presenza di eventuali mutazioni nei geni in esame.

Risultati ottenibili con il test CardioScreen[®]-Cardiomiopatie?

“POSITIVO” – Presenza di una o più mutazioni: indica che il test ha rilevato una o più mutazioni a livello di uno (o più) geni associati alle cardiomiopatie ereditarie. Il nostro genetista, in sede di consulenza genetica, spiegherà in maniera dettagliata il significato del risultato del test. Un risultato positivo non significa che il paziente ai cui è stata riscontrata una mutazione andrà incontro necessariamente a un evento cardiaco patologico grave, ma solamente che quel paziente presenta una variante associata alle cardiomiopatie ereditarie, cioè possiede un **rischio maggiore** rispetto ad una persona che non presenta la specifica mutazione e, in caso di situazione incerta, è utile a confermare la diagnosi. Infatti, non tutte le persone che sono portatrici di mutazione vanno incontro a eventi cardiaci gravemente patologici; sebbene queste mutazioni aumentino notevolmente il rischio che un evento cardiaco improvviso si manifesti nel corso della vita o durante una sollecitazione cardiaca come ad esempio una performance sportiva. L'identificazione di una mutazione predisponente permette di stabilire un protocollo di controlli clinici e di valutare l'opportunità di interventi preventivi quali ad esempio defibrillatori impiantabili o terapie farmacologiche antiaritmiche. L'esito positivo al test permette inoltre di estendere lo screening ad altri familiari a rischio che desiderino eseguirlo. In questi ultimi l'analisi ha valore di test predittivo, perché consente di distinguere, all'interno di queste famiglie, i soggetti portatori di mutazioni potenzialmente pericolose dai non portatori, identificando con precisione gli individui che presentano un elevato rischio e coloro il cui rischio è paragonabile a quello della popolazione generale. In questo modo, i primi potranno essere avviati in maniera mirata a specifici programmi di sorveglianza o di profilassi, mentre i secondi potranno essere indirizzati ai controlli previsti per la popolazione generale.

Le mutazioni riscontrabili tramite il test **CardioScreen[®]-Cardiomiopatie** possono rientrare nelle seguenti categorie prognostiche:

- **significato patologico noto;**
- **significato benigno** in quanto sono riscontrabili in individui normali e sono prive di significato patologico

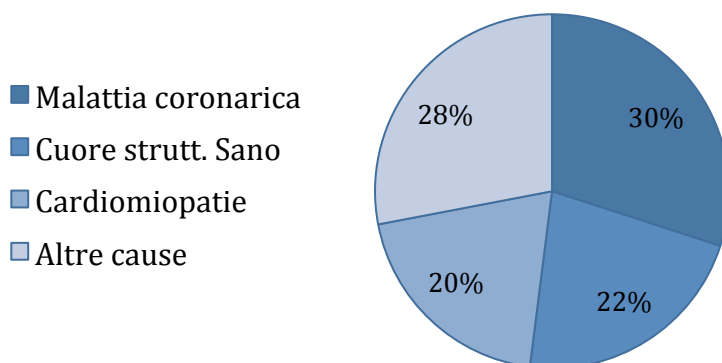
- **significato patologico incerto** in quanto non ancora note o caratterizzate dalla comunità medico- scientifica. In questo caso possono essere necessari ulteriori indagini per chiarire il significato della variante.

“NEGATIVO” - Assenza di mutazioni: indica che il test non ha rilevato la presenza di mutazioni nei geni esaminati. Tuttavia è importante sottolineare che un risultato negativo non significa che il paziente presenta rischio uguale a zero di incorrere in un evento cardiaco potenzialmente grave o di sviluppare una cardiomiopatia nel corso della vita; queste persone possiedono lo stesso rischio riportato per la popolazione generale, ciò perché non tutte le forma di cardiomiopatia e arresto cardiaco improvviso sono da ricondursi a cause genetiche.

CASISTICA IN LETTERATURA

In uno studio effettuato su 100 casi consecutivi di morti improvvise giovanili (fino a 40 anni), verificatesi nella Regione Lazio tra il 2001 e 2005, l'autopsia ha consentito di identificare nel 30% dei casi una malattia coronarica (per la maggior parte di natura aterosclerotica) e nel 22% dei casi una cardiomiopatia. Tra le cardiomiopatie, la più frequente è risultata la cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro (ARVC, 12%) seguita dalla cardiomiopatia ipertrofica (HCM, 4%). La miocardite è stata riscontrata nel 2% dei casi e il prolasso della valvola mitrale nel 3%. Infine, nel 20% dei casi il cuore è risultato strutturalmente normale all'autopsia, mentre nel rimanente 28% le cause di morte non erano strettamente legate a patologia cardiaca.

**Regione Lazio 2001-2005
100 casi consecutivi di MCI**



In uno studio prospettico inglese condotto da Behr et al. in Inghilterra su soggetti adulti, focalizzato solo sulle morti cardiache inaspettate con autopsia negativa (definite sindromi della morte improvvisa aritmica, SADS), una parte delle quali può essere attribuita a sindromi aritmiche

ereditarie, è stata rilevata un'incidenza annuale di SADS di 0.16 casi su 100 000 per

anno (500 casi per anno), con una prevalenza maggiore nei giovani maschi. In assenza di anomalie cardiache strutturali, il substrato fisiopatologico della morte improvvisa è rappresentato da disordini elettrofisiologici primitivi ereditari, rappresentati dalle malattie dei canali ionici, prevalentemente LQTS, BS e CPVT. Lo studio identifica inoltre una prevalenza del 18% di una storia familiare positiva per altri casi di morte improvvisa o di morti accidentali inspiegate, suggerendo la possibilità di una causa cardiaca ereditaria sottostante.

In uno studio condotto dallo Steering Group britannico sulla SADS in 32 casi consecutivi di morte improvvisa aritmica sine materia, non selezionati per età, lo screening cardiologico dei parenti di primo grado ha svelato la presenza di una malattia cardiaca ereditaria nel 22% delle famiglie esaminate; in circa la metà dei casi si trattava di LQTS.

Parametri utilizzati per la refertazione delle varianti genetiche

L'analisi è mirata esclusivamente ai geni elencati in Tabella 1. Verranno refertate solo le mutazioni classificate come a significato patogenetico noto o con significato incerto, sulla base dei dati della letteratura scientifica e della classificazione presente nel database di riferimento Human Gene Mutation Database (HGMD), aggiornato alla data del prelievo. Inoltre, seguendo le indicazioni dell'American College of Medical Genetics (ACMG), sono state considerate come patogenetiche o presunte patogenetiche solo le mutazioni con un valore di Minor Allele Frequency (MAF) <5% (1000 Genomes Project), riferibile come la frequenza di ricorrenza dell'allele meno comune all'interno della popolazione.

Target Coverage

Si intende per *Target Coverage*, il numero medio di letture (*reads*) ottenute dal sequenziamento per ciascuna base nucleotidica costituente il gene. Le varianti con una profondità di lettura (numero di reads) inferiore a 30X non vengono evidenziate dall'algoritmo di analisi bioinformatica.

Accuratezza del test CardioScreen[®]-Cardiomiopatie

Le tecniche attuali di sequenziamento del DNA producono risultati con un'accuratezza superiore al 99%. Benché questo test sia molto accurato bisogna sempre considerare i limiti dell'esame, di seguito descritti.

Limiti del test CardioScreen[®] -Cardiomiopatie

Questo esame valuta solo i geni elencati in Tabella 1, e non è in grado di evidenziare:

4. mutazioni localizzate nelle regioni introniche oltre ± 5 nucleotidi dai breakpoints;

5. delezioni, inversioni o duplicazioni maggiori di 20 bp;

6. mosaicismi della linea germinale (cioè mutazioni presenti solo nei gameti).

Un risultato **“NEGATIVO”** - **Assenza di mutazioni** per i geni investigati non esclude la possibilità di essere portatori di una mutazione localizzata in una regione del genoma non investigata dall'esame.

E' possibile che alcune zone del proprio DNA non possano essere sequenziate o che abbiano una copertura inferiore ai limiti fissati dagli esperti di GENOMA Group per garantire un'analisi accurata delle varianti. Queste regioni non saranno quindi comprese nell'analisi qualora non superino gli standard qualitativi richiesti.

In alcuni casi, il risultato di un'analisi genomica può rivelare una variante o mutazione del DNA con un significato clinico non certo o determinabile in base alle attuali conoscenze medico- scientifiche.

L'interpretazione delle varianti genetiche si basa sulle più recenti conoscenze disponibili al momento dell'analisi. Tale interpretazione potrebbe cambiare in futuro con l'acquisizione di nuove informazioni scientifiche e mediche sulla struttura del genoma ed influire sulla valutazione stessa delle varianti.

Alcune patologie possono essere causate o regolate da più di una variante nel suo DNA in uno o più geni. Alcune di queste varianti possono non essere ancora state identificate o validate dalla comunità scientifica e quindi non essere riportate come patogenetiche al momento dell'analisi.

Limite intrinseco della metodologia NGS utilizzata è la mancanza di uniformità di *coverage* per ciascuna regione genica analizzata. Tale limite si traduce nella possibilità, insita nelle metodiche NGS, che specifiche mutazioni dei geni selezionati potrebbero non essere state rilevate dal test.

Riferimenti Bibliografici

1. Teekakirikul et al. Inherited cardiomyopathies: molecular genetics and clinical genetic testing in the postgenomic era. *J Mol Diagn.* 2013 Mar;15(2):158-70.
2. Roberts et al. Integrated allelic, transcriptional, and phenomic dissection of the cardiac effects of titin truncations in health and disease. *Sci Transl Med.* 2015 Jan 14;7(270):270ra6.
3. Ackerman et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace.* 2012 Feb;14(2):277.
4. Ashley et al. Genetics and cardiovascular disease: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2012 Jul 3;126(1):142-57.
5. Millat et al. Clinical and mutational spectrum in a cohort of 105 unrelated patients with dilated cardiomyopathy. *Eur J Med Genet.* 2011 Nov-Dec;54(6):e570-5.
6. Nakazato et al. Experimental design-based functional mining and characterization of high-throughput sequencing data in the sequence read archive. *PLoS One.* 2013 Oct 22;8(10):e77910.
7. Rapezzi et al. Diagnostic work-up in cardiomyopathies: bridging the gap between clinical phenotypes and final diagnosis. A position statement from the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J.* 2013 May;34(19):1448-58.
8. Wilde AA, Behr ER. Genetic testing for inherited cardiac disease. *Nat Rev Cardiol.* 2013 Oct;10(10):571-83
9. Del Vecchio M, Padeletti L. La morte cardiaca improvvisa in Italia. Dimensioni, percezioni, politiche ed impatto economi- co-finanziario. *G Ital Cardiol* 2008; 9 (Suppl 1-11): S5-S23.
10. Corrado D, Basso C, Pavei A, Michieli P, Schiavon M, Thiene G. Trends in sudden cardiovascular death in young competitive athletes after implementation of a preparticipation screening program. *JAMA* 2006; 296: 1593-601.
11. Di Gioia CR, Autore C, Romeo DM, et al. Sudden cardiac death in younger adults: autopsy diagnosis as a tool for preventive medicine. *Hum Pathol* 2006; 37: 794-801. L'importanza dell'indagine autoptica nello studio della morte improvvisa giovanile. L'esperienza nella Regione Lazio.
12. Behr ER, Casey A, Sheppard M, et al. Sudden arrhythmic death syndrome: a national survey of sudden unexplained cardiac death. *Heart* 2007; 93: 601-5.
13. Tan HL, Hofman N, van Langen IM, van der Wal AC, Wilde AA. Sudden unexplained death: heritability and diagnostic yield of cardiological and genetic examination in surviving relatives. *Circulation* 2005; 112: 207-13.
14. Behr ER, Dalageorgou C, Christiansen M, et al. Sudden ar- rhythmic death syndrome:

familial evaluation identifies in- heritable heart disease in the majority of families. Eur Heart J 2008; 29: 1670-80. Una rassegna sul ruolo dello *screening* cardiologico familiare nei casi di morte improvvisa *sine materia*.

7. Heart Rhythm UK Familial Sudden Death Syndrome Statement Development Group. Clinical indications for genetic testing in familial sudden cardiac death syndromes: an HRUK position statement. Heart 2008; 94: 502-7. Raccomandazioni sull'indagine genetica nel Regno Unito: costo-efficacia, *counseling* e autopsia molecolare nelle singole patologie aritmiche genetiche.
8. Priori SG, Napolitano C, Memmi M, et al. Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. Circulation 2002; 106: 69-74.
9. Sen-Chowdhry S, Syrris P, McKenna WJ. Role of genetic analysis in the management of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 2007; 50: 1813-21.
10. Basso C, Burke M, Fornes P, et al. Association for European Cardiovascular Pathology. Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death. Virchows Arch 2008; 452: 11-8.
11. Chugh SS, Senashova O, Watts A, et al. Postmortem molecular screening in unexplained sudden death. J Am Coll Cardiol 2004; 43: 1625-9.
12. Priori SG, Napolitano C, Vicentini A. Inherited arrhythmia syndromes: applying the molecular biology and genetic to the clinical management. J Interv Card Electrophysiol 2003; 9: 93-101.
13. Liberthson RR. Sudden death from cardiac causes in children and young adults. N Engl J Med 1996; 334: 1039-44.
14. D'Amati G, Di Gioia CR, Silenzi PS, Gallo P. Tre buoni motivi per richiedere sempre un'autopsia nei casi di morte improvvisa giovanile. G Ital Cardiol 2009; 10: 209-15.
15. Corrado D, Basso C, Thiene G. Sudden death in young athletes. Lancet 2005; 366 (Suppl 1): S47-S48.
16. Corrado D, Basso C, Thiene G. Sudden cardiac death in young people with apparently normal heart. Cardiovasc Res 2001; 50: 399-408.

Tabella 1: CardioScreen® - Cardiomiopatie

Elenco dei geni analizzati e della malattie genetiche investigate

	MALATTIA	PhenoMIM	GENE
1	Atrial fibrillation, familial, 12	<u>614050</u>	ABCC9
2	Atrial septal defect 5	<u>612794</u>	ACTC1
3	Dilated cardiomyopathy 1AA	<u>612158</u>	ACTN2
4	Cardiomyopathy, hypertrophic/Cardiomyopathy, dilated	<u>609599</u>	ANKRD1
5	Ventricular tachycardia, catecholaminergic polymorphic, 2	<u>611938</u>	CASQ2
6	Cardiomyopathy, familial hypertrophic	<u>192600</u>	CAV3
7	Cardiomyopathy, dilated, 1II	<u>615184</u>	CRYAB
8	Cardiomyopathy, dilated, 1M	<u>607482</u>	CSRP3
9	Cardiomyopathy, dilated	<u>600435</u>	CTF1
10	Cardiomyopathy, dilated, 1I	<u>604765</u>	DES
11	Arrhythmogenic right ventricular dysplasia 11	<u>610476</u>	DSC2
12	Arrhythmogenic right ventricular dysplasia 10	<u>610193</u>	DSG2
13	Arrhythmogenic right ventricular dysplasia 8	<u>607450</u>	DSP
14	Left ventricular noncompaction 1, with or without congenital heart defects	<u>604169</u>	DTNA
15	Emery-Dreifuss muscular dystrophy 1, X-linked	<u>310300</u>	EMD
16	Cardiomyopathy, dilated	<u>602633</u>	FHL2
17	Fabry disease, cardiac variant	<u>301500</u>	GLA
18	Arrhythmogenic right ventricular dysplasia 12	<u>611528</u>	JUP
19	Cardiomyopathy, dilated, 1JJ	<u>615235</u>	LAMA4
20	Danon disease	<u>300257</u>	LAMP2
21	Cardiomyopathy, dilated, 1C, with or without LVNC	<u>601493</u>	LDB3
22	Cardiomyopathy, dilated, 1A	<u>115200</u>	LMNA
23	Cardiomyopathy, dilated, 1MM	<u>615396</u>	MYBPC3
24	Atrial septal defect 3	<u>614089</u>	MYH6
25	Cardiomyopathy, dilated, 1S	<u>613426</u>	MYH7
26	Cardiomyopathy, hypertrophic, 10	<u>608758</u>	MYL2
27	Cardiomyopathy, hypertrophic, 8	<u>608751</u>	MYL3
28	Cardiomyopathy, hypertrophic, 1, digenic	<u>192600</u>	MYLK2
29	Cardiomyopathy, hypertrophic, 16	<u>613838</u>	MYOZ2
30	Cardiomyopathy, dilated, 1CC	<u>613122</u>	NEXN
31	Arrhythmogenic right ventricular dysplasia 9	<u>609040</u>	PKP2
32	Cardiomyopathy, dilated, 1P	<u>609909</u>	PLN
33	Cardiomyopathy, hypertrophic 6	<u>600858</u>	PRKAG2
34	Cardiomyopathy, dilated, 1DD	<u>613172</u>	RBM20

35	Arrhythmogenic right ventricular dysplasia 2	<u>600996</u>	RYR2
36	Cardiomyopathy, dilated, 1L	<u>606685</u>	SGCD
37	Barth syndrome	<u>302060</u>	TAZ
38	Cardiomyopathy, hypertrophic, 25	<u>607487</u>	TCAP
39	Arrhythmogenic right ventricular dysplasia 5	<u>604400</u>	TMEM43
40	Cardiomyopathy, dilated, 1Z	<u>611879</u>	TNNC1
41	Cardiomyopathy, dilated, 2A	<u>611880</u>	TNNI3
42	Cardiomyopathy, dilated, 1D	<u>601494</u>	TNNT2
43	Cardiomyopathy, dilated, 1Y	<u>611878</u>	TPM1
44	Cardiomyopathy, dilated, 1G	<u>604145</u>	TTN
45	Amyloidosis, hereditary, transthyretin-related	<u>105210</u>	TTR
46	Cardiomyopathy, dilated, 1W	<u>611407</u>	VCL