

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA**

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA**

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CARDIO-TORACO-VASCOLARI  
E SANITÀ PUBBLICA

DIRETTORE: CHIAR.MO PROF. FEDERICO REA

U.O.C. DI CARDIOLOGIA

DIRETTORE: CHIAR.MO PROF. SABINO ILCETO

TESI DI LAUREA

**CARATTERIZZAZIONE CLINICA DI PAZIENTI  
PORTATORI  
DI VARIANTI PATOGENE DEL GENE *LMNA***

RELATRICE: Chiar.ma Prof.ssa Barbara Bauce

CORRELATRICE: Dott.ssa Marika Martini

LAUREANDA: Alba Palescandolo

ANNO ACCADEMICO 2023-2024



# INDICE

<b>RIASSUNTO.....</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUZIONE.....</b>	<b>5</b>
1.1 DEFINIZIONE .....	5
1.2 CENNI STORICI .....	6
1.3 EPIDEMIOLOGIA .....	7
1.4 GENETICA .....	9
1.4.1 Gene <i>LMNA</i> .....	9
1.4.2 Varianti genetiche di <i>LMNA</i> .....	10
1.4.3 Meccanismi di patogenicità genetica.....	13
1.4.3.1 <i>Aploinsufficienza</i> .....	14
1.4.4 Varianti genetiche di <i>LMNA</i> come predittori di rischio .....	14
1.4.5 Varianti di significato incerto (variants of unknown significance: VUS).....	15
1.4.6 Varianti <i>LMNA</i> e Cardiomiopatia Aritmogena.....	16
1.5 PATOGENESI .....	17
1.5.1 Lamine e lamina nucleare .....	17
1.5.2 Funzioni delle lamine.....	18
1.5.2.1 <i>Supporto strutturale</i> .....	19
1.5.2.2 <i>Meccanotrasduzione</i> .....	19
1.5.2.3 <i>Organizzazione della cromatina</i> .....	19
1.5.2.4 <i>Regolazione dell'espressione genica</i> .....	20
1.5.2.5 <i>Mediazione delle vie di segnalazione cellulare</i> .....	20
1.5.3 Ipotesi patogenetiche.....	21
1.5.3.1 <i>Ipotesi meccanica</i> .....	21
1.5.3.2 <i>Ipotesi dell'espressione genica</i> .....	23
1.5.3.2.1 <i>Ipotesi della cromatina</i> .....	23
1.5.3.2.2 <i>Ipotesi della trasduzione del segnale</i> .....	23
1.5.3.3 <i>Ipotesi della tossicità cellulare</i> .....	24
1.5.4 Patogenesi della cardiomiopatia aritmogena.....	25
1.6 MANIFESTAZIONI CLINICHE.....	26
1.6.1 Disfunzione meccanica .....	28
1.6.1.1 <i>Cardiomiopatia dilatativa</i> .....	28
1.6.1.2 <i>Cardiomiopatia aritmogena</i> .....	29
1.6.2 Aritmie .....	30
1.6.2.1 <i>Disturbi di conduzione</i> .....	30
1.6.2.2 <i>Aritmie ventricolari e morte cardiaca improvvisa</i> .....	31
1.6.2.3 <i>Aritmie sopraventricolari e atriopatia LMNA-correlata</i> .....	32

1.6.2.3.1	Rischio tromboembolico .....	33
1.7	DIAGNOSI.....	34
1.7.1	Anamnesi familiare ed esame obiettivo .....	35
1.7.2	Elettrocardiogramma.....	35
1.7.3	ECG dinamico secondo Holter.....	38
1.7.4	Ecocardiogramma transtoracico.....	38
1.7.5	Risonanza magnetica cardiaca .....	41
1.7.6	Esami ematochimici.....	43
1.7.7	Test genetico.....	44
1.7.8	Biopsia endomiocardica .....	45
1.8	PROGNOSI.....	47
1.8.1	Stratificazione del rischio.....	48
1.8.2	Storia clinica.....	49
1.9	TERAPIA .....	51
1.9.1	Modifiche dello stile di vita .....	51
1.9.2	Trattamento dello scompenso.....	52
1.9.2.1	<i>Terapia di resincronizzazione cardiaca.....</i>	53
1.9.2.2	<i>Trapianto cardiaco e dispositivi di assistenza ventricolare sinistra.....</i>	53
1.9.3	Trattamento delle aritmie .....	54
1.9.3.1	<i>Trattamento delle aritmie atriali.....</i>	54
1.9.3.2	<i>Trattamento delle aritmie ventricolari.....</i>	55
1.9.4	Nuove strategie terapeutiche .....	58
<b>2.</b>	<b>SCOPO DELLO STUDIO .....</b>	<b>63</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIALI E METODI.....</b>	<b>64</b>
3.1	POPOLAZIONE DI STUDIO.....	64
3.2	ELETTROCARDIOGRAMMA .....	65
3.3	ECG DINAMICO SECONDO HOLTER .....	66
3.4	ECOCARDIOGRAFIA.....	66
3.5	RISONANZA MAGNETICA CARDIACA .....	67
3.6	TEST GENETICO.....	68
3.7	DEFINIZIONE DELL'OUTCOME.....	69
3.8	ANALISI STATISTICA.....	70
<b>4.</b>	<b>RISULTATI .....</b>	<b>71</b>
4.1	CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE CON MUTAZIONI DEL GENE <i>LMNA</i> E CONFRONTO TRA I DIVERSI FENOTIPI.....	71
4.1.1	Caratteristiche cliniche e di outcome .....	71
4.1.2	Esami strumentali.....	75

4.1.2.1	<i>Caratteristiche elettrocardiografiche</i> .....	77
4.1.2.2	<i>Caratteristiche ecocardiografiche</i> .....	78
4.1.2.3	<i>Caratteristiche RMC</i> .....	79
4.2	CONFRONTO TRA MUTAZIONI PATOGENE O PROBABILMENTE PATOGENE (CLASSI 4 E 5) E VARIANTI DI SIGNIFICATO INCERTO (VUS, CLASSE 3) DEL GENE <i>LMNA</i> .....	81
4.2.1	Caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome.....	82
4.2.2	Esami strumentali.....	84
4.3	ANALISI DI REGRESSIONE.....	86
4.4	CONFRONTO TRA MUTAZIONI DI CLASSE 4 E 5 DEL GENE <i>LMNA</i> E MUTAZIONI DI CLASSE 4 E 5 DEL GENE <i>DSP</i> .....	88
4.4.1	Caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome.....	88
4.4.2	Esami strumentali.....	91
<b>5.</b>	<b>DISCUSSIONE</b> .....	<b>95</b>
5.1	CARATTERISTICHE CLINICO-STRUMENTALI DEI PAZIENTI CON MUTAZIONE DEL GENE <i>LMNA</i> .....	95
5.2	CONFRONTO TRA MUTAZIONI PATOGENE O PROBABILMENTE PATOGENE (CLASSI 4 E 5) E VARIANTI DI SIGNIFICATO INCERTO (VUS) DEL GENE <i>LMNA</i> .....	98
5.3	PREDITTORI DI OUTCOME COMPOSITO.....	99
5.4	CONFRONTO TRA VARIANTI DI CLASSE 4 E 5 DEI GENI <i>LMNA</i> E <i>DSP</i> .....	100
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONI</b> .....	<b>103</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>104</b>

## INDICE DELLE FIGURE

Figura 1 Spettro delle laminopatie.....	5
Figura 2 Rappresentazione schematica del gene LMNA e delle due principali isoforme di lamine di tipo A .....	10
Figura 3 Rappresentazione schematica di selezionate proteine transmembrana delle membrane interna, del poro e esterna dell'involucro nucleare.....	18
Figura 4 Raffigurazione schematica delle vie di trasduzione del segnale influenzate dalla mutazione del gene <i>LMNA</i> . .....	21
Figura 5 Rappresentazione schematica delle ipotesi patogenetiche .....	26
Figura 6 Spettro delle cardiolaminopatie.....	27
Figura 7 Fattori che influenzano il rischio di tromboembolismo e stroke nei pazienti con cardiolaminopatie .....	34
Figura 8 Tracciati ECG tipici delle cardiolaminopatie .....	36
Figura 9 Esempi di ECG che presentano rimodellamento settale:.....	37
Figura 10 L'interazione elettro-meccanica in un paziente con mutazione della lamina A/C .....	39
Figura 11 Atriopatia LMNA-correlata.....	40
Figura 12 Distribuzione della fibrosi tipica dei pazienti con varianti del gene <i>LMNA</i> .....	41
Figura 13 Reperto autoptico di un soggetto con cardiolaminopatia .....	46
Figura 14 Rappresentazione schematica che mostra la progressione strutturale e funzionale della cardiomiopatia da lamina A/C con l'aumentare dell'età. ....	51
Figura 15 Esempio di cardiolaminopatia con cicatrice basale perivalvolare ventricolare sinistra (LV) e probabile origine della tachicardia ventricolare (VT) intramurale. ....	57
Figura 16 Rappresentazione schematica dei principali bersagli terapeutici delle cardiolaminopatie.....	58
Figura 17 Rappresentazione schematica dell'effetto di ARRY-371797.....	60
Figura 18 L'ablazione genetica delle pathways di risposta al danno al DNA.....	61
Figura 19 Popolazione di studio.....	71
Figura 20 Grafico che mostra il motivo della diagnosi.....	74
Figura 21 Istogramma che illustra le caratteristiche elettrocardiografiche della popolazione di studio. ....	78
Figura 22 Box plot per FE nei vari gruppi .....	79

Figura 23	Illustrazione della distribuzione del LGE nella popolazione totale.....	81
Figura 24	Rappresentazione schematica della popolazione di studio in base al genotipo.....	84
Figura 25	Forrest-plot che illustra i risultati dell'analisi di regressione univariata .....	88
Figura 26	Istogramma che confronta la frequenza di eventi per il gruppo <i>LMNA</i> e <i>DSP</i> , box-plot che confronta età medie eventi nei due gruppi.....	91
Figura 27	Confronto risultati CMR tra gruppi <i>LMNA</i> e <i>DSP</i> .....	94

## INDICE DELLE TABELLE

Tabella I Esempi di correlazioni genetico-cliniche .....	11
Tabella II Strumenti diagnostici nelle laminopatie cardiache .....	47
Tabella III Tabella caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome dei pazienti con varianti del gene <i>LMNA</i> .....	73
Tabella IV Risultati degli esami strumentali (ecg, eco, CMR) dei pazienti con varianti del gene <i>LMNA</i> .....	77
Tabella V Confronto delle caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome di pazienti con mutazioni patogene o probabilmente patogene (P+LP) e con varianti di incerto significato (VUS) del gene <i>LMNA</i> .....	83
Tabella VI Confronto degli esami strumentali (ecg, eco, CMR) dei pazienti con mutazioni patogene o probabilmente patogene (P+LP) e con varianti di incerto significato (VUS) del gene <i>LMNA</i> .....	86
Tabella VII Risultati dell'analisi di regressione univariata.....	87
Tabella VIII Confronto delle caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome dei pazienti con mutazioni di classe 4 e 5 del gene <i>LMNA</i> e dei pazienti con mutazioni di classe 4 e 5 del gene <i>DSP</i> .....	90
Tabella IX Confronto degli esami strumentali (ecg, eco, CMR) di pazienti con mutazioni di classe 4 e 5 del gene <i>LMNA</i> e dei pazienti con mutazioni di classe 4 e 5 del gene <i>DSP</i> .....	93

## RIASSUNTO

**Presupposti dello studio.** Le cardiolaminopatie, manifestazioni eterogenee e complesse delle mutazioni del gene *LMNA*, si caratterizzano per la peculiare coesistenza di anomalie strutturali cardiache ed instabilità elettrica. La presenza di alterazioni a livello del miocita determina la frequente comparsa di cardiomiopatia dilatativa (dilated cardiomyopathy: DCM), disturbi di conduzione atrioventricolare e tachiaritmie sia atriali che ventricolari, con conseguenti alto rischio di morte cardiaca improvvisa e scompenso cardiaco. Queste patologie cardiache si caratterizzano per la presenza di elevata penetranza, esordio giovanile, decorso rapido e progressivo e prognosi infausta. Ad oggi molti aspetti risultano ancora poco chiari, in particolare la correlazione tra la presenza di specifiche varianti genetiche e le diverse manifestazioni cliniche. Infatti, il fenotipo, la gravità e la progressione della malattia mostrano una marcata variabilità interindividuale, anche tra i membri di uno stesso nucleo familiare.

**Scopo dello studio.** Gli obiettivi dello studio sono: 1) la caratterizzazione clinico-strumentale di pazienti con mutazioni del gene *LMNA* ed il confronto di pazienti con varianti patogene o probabilmente patogene (P/LP, Classe 4 e 5) con pazienti con varianti di incerto significato (VUS, Classe 3) del gene *LMNA*; 2) la ricerca di eventuali predittori di outcome nei pazienti con variante *LMNA*; 3) il confronto delle caratteristiche clinico-strumentali di pazienti con mutazioni di Classe 4 e 5 del gene *LMNA* e pazienti con mutazioni del gene Desmoplachina (*DSP*) di Classe 4 e 5.

**Materiali e metodi.** Sono stati selezionati pazienti con varianti del gene *LMNA* (n=54), che sono stati analizzati in base al fenotipo (DCM, Cardiomiopatia Aritmogena del Ventricolo destro-ARVC, Cardiomiopatia con Ventricolo Sinistro Non Dilatato-NDLVC e pazienti che non rientrano nei criteri diagnostici). Successivamente i pazienti sono stati suddivisi in 2 gruppi in base al genotipo, ovvero pazienti con varianti genetiche di Classe 4 e 5 e pazienti con varianti di Classe 3 (VUS), che sono stati confrontati dal punto di vista clinico-strumentale (anamnesi, caratteristiche elettrocardiografiche, di imaging e di outcome). Inoltre, i pazienti con mutazioni del gene *LMNA* di classe 4 e 5 (n=27) sono stati confrontati con pazienti portatori di varianti del gene *DSP* di Classe 4 e 5 (n=48).

**Risultati.** La popolazione oggetto di studio includeva 54 pazienti, di cui 38 (70.37%) con diagnosi di cardiomiopatia e 16 (29.63%) che non soddisfacevano i

criteri diagnostici di cardiomiopatia. I primi sono stati ulteriormente suddivisi in 3 gruppi in base al fenotipo: 17 pazienti con DCM (44.74%), 17 con NDLVC (44.74%) e 4 con ARVC (10,52%). Nella popolazione totale l'età media alla diagnosi era  $53.3 \pm 15.81$  anni, con un intervallo compreso tra 12 e 76 anni. Dal confronto tra pazienti con varianti di Classe 4/5 e pazienti con VUS non sono emerse differenze significative di carattere clinico-strumentale, tuttavia gli outcome scompenso cardiaco (P+LP= 63%, VUS=0,  $p=0.004$ ) e trapianto cardiaco (P+LP= 33%, VUS=0,  $p=0.002$ ) sono risultati più frequenti nei pazienti con varianti di classe 4/5. Nella popolazione totale con variante *LMNA* sono risultati come predittori di outcome composito (aritmie ventricolari maggiori, scompenso cardiaco e morte): la fibrillazione atriale ( $p=0.006$ ), il volume telediastolico del ventricolo destro ( $p=0.016$ ), la frazione d'eiezione sinistra ( $p=0.002$ ) e destra ( $p=0.003$ ). Al contrario, il blocco di branca sinistra ed il ritmo indotto da pacemaker hanno mostrato una tendenza verso la significatività statistica ( $p=0.06$ ) e un elevato odds ratio (OR = 8.25). In merito al confronto con pazienti con mutazione *DSP*, non sono emerse differenze significative tra i due gruppi riguardo l'outcome aritmico ( $p=0.25$ ). Tuttavia, i pazienti con mutazione *LMNA* presentavano maggiore incidenza di scompenso ( $p=0.01$ ), con maggiore necessità di trapianto cardiaco ( $p<0.001$ ) rispetto ai pazienti con mutazione *DSP*. Al contrario questi ultimi presentavano più fibrosi alla risonanza magnetica (RM) cardiaca ( $p<0.001$ ).

**Conclusioni.** I pazienti con varianti del gene *LMNA* possono presentare diversa espressione fenotipica, con diagnosi di DCM, NDLVC e ARVC con diversa penetranza. I pazienti con VUS avevano caratteristiche sovrapponibili a quelli con mutazioni P o LP eccetto per gli outcome, che risultavano più significativi nel gruppo con mutazioni di classe 4/5. Nella nostra popolazione, sono risultati predittori di outcome la fibrillazione atriale, il volume telediastolico destro, la frazione d'eiezione destra e sinistra. Infine, nel gruppo *LMNA*, l'incidenza di scompenso cardiaco e trapianto è risultata più alta rispetto al gruppo *DSP*, che invece mostrava una maggiore presenza di fibrosi alla RM cardiaca. Tuttavia, il grado di instabilità elettrica è risultato simile nei due gruppi.

## ABSTRACT

**Background.** Cardiomyopathies, heterogeneous and complex manifestations of *LMNA* gene mutations, are characterized by the peculiar coexistence of structural cardiac abnormalities and electrical instability. The presence of alterations at the myocyte level often leads to dilated cardiomyopathy (DCM), atrioventricular conduction disorders, and both atrial and ventricular tachyarrhythmias, resulting in a high risk of sudden cardiac death and heart failure. These cardiac pathologies are characterized by high penetrance, early onset, rapid and progressive course, and poor prognosis. To date, many aspects remain unclear, particularly the correlation between the presence of specific genetic variants and the different clinical manifestations. Indeed, the phenotype, severity, and progression of the disease show marked interindividual variability, even among family members.

**Aim of the study.** The aims of the study are: 1) the clinical-instrumental characterization of patients with *LMNA* gene mutations and the comparison of patients with pathogenic or likely pathogenic variants (P/LP, Class 4 and 5) with patients with variants of uncertain significance (VUS, Class 3) of the *LMNA* gene; 2) the search for potential outcome predictors in the cohort of patients with *LMNA* variant; 3) the comparison of clinical-instrumental characteristics of patients with Class 4 and 5 mutations of the *LMNA* gene and patients with Class 4 and 5 mutations of the Desmoplakin gene (*DSP*).

**Materials and Methods.** Patients with *LMNA* gene variants (n=54) were selected and analyzed based on phenotype (DCM, Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy-ARVC, Non-Dilated Left Ventricular Cardiomyopathy-NDLVC, and patients not meeting the diagnostic criteria). Subsequently, the patients were divided into two groups based on genotype: those with Class 4 and 5 genetic variants and those with Class 3 variants (VUS). These groups were compared from a clinical-instrumental perspective (medical history, electrocardiographic characteristics, imaging features, and outcomes). Additionally, patients with Class 4 and 5 *LMNA* gene mutations (n=27) were compared with patients carrying Class 4 and 5 *DSP* gene variants (n=48).

**Results.** The population under study included 54 patients, of whom 38 (70.37%) had a diagnosis of cardiomyopathy and 16 (29.63%) did not meet the diagnostic criteria for cardiomyopathy. The former were further divided into three groups

based on phenotype: 17 patients with DCM (44.74%), 17 with NDLVC (44.74%), and 4 with ARVC (10.52%). In the total population, the mean age at diagnosis was  $53.3 \pm 15.81$  years, with a range between 12 and 76 years. No significant clinical-instrumental differences emerged from the comparison between patients with Class 4/5 variants and those with VUS. However, the outcomes of heart failure (P+LP= 63%, VUS=0,  $p=0.004$ ) and heart transplantation (P+LP= 33%, VUS=0,  $p=0.002$ ) were more frequent in patients with Class 4/5 variants. In the total population with LMNA variants, predictors of composite outcomes (major ventricular arrhythmias, heart failure, and death) were atrial fibrillation ( $p=0.006$ ), right ventricular end-diastolic volume ( $p=0.016$ ), left ( $p=0.002$ ) and right ( $p=0.003$ ) ejection fractions. Conversely, left bundle branch block and pacemaker-induced rhythm showed a trend toward statistical significance ( $p=0.06$ ) and a high odds ratio (OR = 8.25). Regarding the comparison with patients with DSP mutation, there were no significant differences between the two groups concerning arrhythmic outcomes ( $p=0.25$ ). However, patients with LMNA mutation had a higher incidence of heart failure ( $p=0.01$ ) with a greater need for heart transplantation ( $p<0.001$ ) compared to patients with DSP mutation. Conversely, the latter had more fibrosis on cardiac magnetic resonance (MRI) ( $p<0.001$ ).

**Conclusions.** Patients with LMNA gene variants may exhibit diverse phenotypic expressions, with diagnoses of DCM, NDLVC, and ARVC, showing varying penetrance. Patients with VUS had characteristics similar to those with P or LP mutations, except for outcomes, which were more significant in the group with class 4/5 mutations. In our population, predictors of outcome included atrial fibrillation, right end-diastolic volume, and both right and left ejection fractions. Finally, in the LMNA group, the incidence of heart failure and transplantation was higher compared to the DSP group, which exhibited a greater presence of fibrosis on cardiac MRI. However, the degree of electrical instability was similar in both groups.

# 1. INTRODUZIONE

## 1.1 DEFINIZIONE

La presenza di varianti del gene *LMNA*, che codifica per componenti essenziali della lamina nucleare, causa le laminopatie, un gruppo di disturbi associati a un ampio spettro di fenotipi clinicamente distinti, che colpiscono diversi organi e tessuti (1). Ad oggi sono state descritte ben oltre 500 varianti del gene *LMNA*, associate a più di 15 fenotipi differenti. Le laminopatie possono avere coinvolgimento sistemico, come nelle sindromi da invecchiamento precoce (Progeria di Hutchinson-Gilford, sindrome di Werner atipica) o essere specifiche per determinati tessuti. In particolare, i tessuti più frequentemente coinvolti includono: i nervi periferici (malattia di Charcot-Marie Tooth tipo 2B1), il tessuto adiposo (lipodistrofia parziale familiare di Dunnigan, displasia mandibuloacrale) ed il tessuto muscolare striato (distrofia muscolare di Emery-Dreifuss e distrofia dei cingoli di tipo 1B) (**Figura 1**) (2). Tuttavia, ci sono crescenti prove di overlap tra i vari fenotipi, suggerendo la presenza di un vero e proprio continuum delle laminopatie (3).

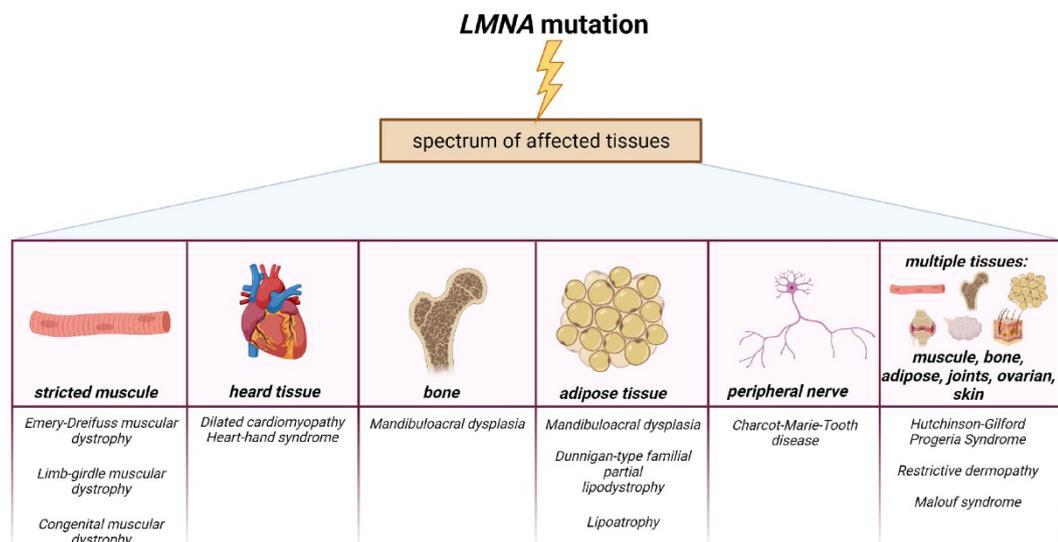


Figura 1 Spettro delle laminopatie: diverse mutazioni del gene *LMNA* hanno interessamento sistemico o colpiscono selettivamente il muscolo striato, il tessuto adiposo ed i nervi periferici (4).

Nei pazienti con varianti del gene *LMNA*, il coinvolgimento cardiaco costituisce una delle manifestazioni più frequenti e gravi. Può presentarsi in forma isolata o essere un segno distintivo di diverse laminopatie, come la distrofia muscolare di Emery-Dreifuss, la distrofia muscolare dei cingoli di tipo 1B e la sindrome di Hutchinson-Gilford (5). Le manifestazioni cardiache, definite cardiolaminopatie,

sono eterogenee e complesse e si caratterizzano per la peculiare coesistenza di anomalie strutturali ed instabilità elettrica. Ciò determina la frequente comparsa di cardiomiopatia dilatativa, disturbi di conduzione atrioventricolare e tachiaritmie sia atriali che ventricolari, con conseguenti alto rischio di morte cardiaca improvvisa e scompenso cardiaco (6).

## 1.2 CENNI STORICI

Per diversi anni le lamine nucleari A e C, codificate dal gene *LMNA*, sono state considerate proteine di supporto (scaffolding proteins), deputate al sostegno della struttura e della funzione del nucleo delle cellule eucariotiche.

Il 1999 ha rappresentato un anno di svolta cruciale per la scoperta di quelle che poi saranno definite cardiolaminopatie. Infatti, nel 1999 Bonne et al. identificarono la mutazione del gene *LMNA* come responsabile della forma autosomica dominante della distrofia muscolare di Emery-Dreifuss (EDMD) (7). La EDMD è caratterizzata dalla triade di: debolezza muscolare e atrofia con distribuzione tipicamente omero-peroneale, contratture tendinee precoci e cardiomiopatia dilatativa. Caratteristica peculiare è il precoce coinvolgimento del sistema di conduzione, con frequente blocco atrioventricolare. L'interessamento cardiaco si verifica in quasi tutti i casi di EDMD, senza una relazione diretta con la gravità del coinvolgimento del muscolo scheletrico.

Nello stesso anno Fatkin et al. osservarono che le mutazioni del gene *LMNA* potevano causare cardiomiopatia dilatativa e disturbi del sistema di conduzione, con minimo o assente coinvolgimento muscolo-scheletrico (8). In particolare, Fatkin e colleghi individuarono 5 nuove varianti missenso del gene *LMNA*, di cui quattro nel rod-domain dell' $\alpha$ -elica del gene codificante le lamine A e C ed una nel dominio carbossiterminale della coda della lamina C. Evidenziarono così che, mentre le varianti del rod domain erano associate solo a problemi a livello cardiaco, con disturbi di conduzione e cardiomiopatia dilatativa (dilated cardiomyopathy. DCM), la variante del tail domain determinava un fenotipo cardiaco più lieve, associato anche a malattia muscolo-scheletrica subclinica con modesto rialzo della creatin-chinasi sierica (8).

Nel 2000 Muchir et al. riportarono che varianti del gene *LMNA* causano la distrofia muscolare dei cingoli di tipo 1B, che colpisce muscoli scheletrici più prossimali rispetto alla distrofia muscolare di Emery-Dreifuss. Tuttavia entrambe le condizioni

sono caratterizzate da una cardiomiopatia dilatativa simile, con un coinvolgimento preminente del sistema di conduzione (9). Nello stesso anno Bonne et al e Brodski et al. scoprirono che la EDMD, la distrofia muscolare dei cingoli di tipo 1B e la DCM con minimo coinvolgimento muscolo-scheletrico, possono essere causate dalla stessa mutazione del gene *LMNA* nello stesso nucleo familiare (10,11). Inoltre, Brodsky et al. identificarono la prima delezione di un singolo nucleotide nel gene *LMNA* (960delT). I soggetti affetti da questa variante genetica presentavano un grave fenotipo di cardiomiopatia dilatativa con coinvolgimento muscolo-scheletrico di grado lieve.

In seguito, Genshel et al. hanno identificato una delezione nell'esone 8 del gene *LMNA* che causa cardiomiopatia dilatativa a trasmissione autosomica dominante, in assenza di qualsiasi coinvolgimento muscolo-scheletrico (12). È interessante notare che la nuova variante è localizzata nel dominio carbossiterminale del gene, vicino alle varianti che causano la lipodistrofia parziale familiare. Invece, le altre varianti descritte che causano DCM sono localizzate nel rod domain della proteina. Inoltre, Genshel e colleghi hanno identificato anche la variante missenso R644C, che causa cardiomiopatia dilatativa familiare, ma senza disturbi del sistema di conduzione e senza segni clinici di distrofia muscolare periferica (13).

In seguito nel 2008 Quijano-Roy et al. hanno associato la presenza di varianti del gene *LMNA* anche alla distrofia muscolare congenita, ad esordio neonatale con frequente coinvolgimento cardiaco (14).

Successivi studi hanno portato all'evidenza che caratteristica comune di queste patologie è il coinvolgimento cardiaco, caratterizzato da DCM associata a malattia del sistema di conduzione. Pertanto, da un punto di vista genetico e fenotipico, queste malattie possono essere descritte come un'unica entità: la cardiomiopatia dilatativa *LMNA*-associata, con o senza diverse forme di coinvolgimento muscolo-scheletrico (15).

### **1.3 EPIDEMIOLOGIA**

La DCM ha una prevalenza di 1/2.500 ed un'incidenza di 7/100.000 casi l'anno, anche se probabilmente risulta sottostimata, a causa della presentazione clinica variabile ed aspecifica, della mancanza di uno screening sistematico e della complessità della diagnosi. Nel 20-50% dei casi è ereditaria e viene definita DCM familiare (FDCM) (15).

Le varianti del gene *LMNA*, nonostante siano presenti solo nel 0,5-5% dei pazienti con DCM costituiscono il secondo gruppo di varianti più frequentemente riscontrate in caso di DCM familiare e sono responsabili del 10% dei casi (17,18). Tale valore arriva fino al 33% se alla DCM si associano disturbi di conduzione (19). La trasmissione è tipicamente autosomica dominante, sebbene siano stati riportati dei rari casi con trasmissione autosomica recessiva o sporadici (20). L'espressività è variabile, con marcata variabilità interindividuale, anche all'interno di uno stesso nucleo familiare. La penetranza è alta ed età correlata, raggiunge il 90-95% entro i 60-70 anni; inoltre, risulta alta anche nei giovani asintomatici (21). Generalmente l'esordio clinico si ha a partire dalla seconda decade di vita.

L'incidenza e l'età di insorgenza sono uguali nei due sessi, tuttavia il sesso maschile ha una prognosi più sfavorevole ed è infatti considerato come un importante fattore di rischio (22). Recenti studi al contrario non hanno confermato una significativa differenza tra i due sessi riguardo all'outcome (23,24). Attualmente non è chiaro a cosa sarebbe dovuta tale differenza, in alcuni casi è stato ipotizzato un ruolo degli ormoni. Ad esempio, per la variante non senso p.Arg225Ter è stato osservato l'accumulo del recettore degli androgeni e dei suoi co-attivatori a livello nucleare, con conseguente traslocazione nel nucleo della proteina FHL2 e del fattore di risposta al siero (SRF), che sono coinvolti nel processo di rimodellamento cardiaco. In particolare, SRF aumenta la trascrizione dei geni correlati al rimodellamento cardiaco, tra cui *Nppa*, *Nppb*, *Myh7* e *Fos*, la cui espressione risulta aumentata nei cuori *LMNA*H222P/H222P. Inoltre, FHL2 è espressa preferenzialmente nel muscolo cardiaco e solo in minima parte nei muscoli scheletrici (25). Un'altra possibile ipotesi per la differente prognosi legata al sesso potrebbe essere l'effetto avverso degli androgeni. Sebbene alcuni studi abbiano dimostrato un'influenza degli androgeni sull'ipertrofia cardiaca e sulla fibrosi nei topi, il loro ruolo nella progressione delle malattie cardiache non è stato completamente chiarito (26).

Le varianti nel gene *LMNA* sono state identificate in diversi pazienti affetti da cardiomiopatia aritmogena (27–29). Inoltre, alcune varianti del gene *LMNA* sono state riscontrate anche in pazienti con non compattazione del ventricolo sinistro (left ventricular non compaction: LVNC), con prevalenza variabile dallo 0,5% al 5% dei casi a seconda delle casistiche (30).

## 1.4 GENETICA

### 1.4.1 Gene *LMNA*

Il gene *LMNA* è stato mappato nell'uomo sul braccio lungo del cromosoma 1, nella regione 1q21.2–1q21.3, ed è composto da 12 esoni, che si estendono per circa 25 kb (31).

Lo splicing alternativo dell'esone 10 genera due differenti mRNA, che codificano per le lamine nucleari di tipo A, di cui le lamine A e C rappresentano le principali isoforme (**Figura 2**). Invece, le isoforme lamina C2 e AD10 sono descritte rispettivamente nelle cellule germinali e nelle cellule cancerose (32). L'analisi della sequenza ha rivelato che le lamine A e C umane sono identiche per i primi 566 amminoacidi. La prelamina A contiene 98 amminoacidi carbossi-terminali specifici, di cui gli ultimi 18 amminoacidi vengono rimossi proteoliticamente per produrre la lamina A matura. Invece, la lamina C ha 6 amminoacidi carbossi-terminali unici (31).

Le proteine lamine di tipo A sono costituite da tre domini:

- un breve dominio testa ammino-terminale codificato dalla prima parte dell'esone 1;
- un dominio centrale, definito rod domain, codificato dal resto dell'esone 1 fino all'esone 6. È costituito da una struttura a coiled coil (elica superavvolta), funzionale alla dimerizzazione delle proteine;
- un dominio coda carbossi-terminale, codificato dagli esoni 7–9, che sono identici per entrambe le lamine. Esso comprende il segnale di localizzazione nucleare (NLS), localizzato nell'esone 7 e codificato da una sequenza di sei amminoacidi, ed un dominio immunoglobulinico (Ig-like domain), importante per l'interazione proteina-proteina.

Gli esoni 11 e 12 sono specifici per la lamina A, in particolare a livello dell'esone 12 è localizzata la sequenza codificante per la CAAX box. Infatti, a differenza della lamina C, la lamina A viene tradotta come prelamina A, contenente il motivo CaaX carbossi-terminale, ed a seguito di modifiche post-traduzionali viene trasformata in lamina A matura. In particolare, la prelamina A viene farnesilata a livello della cisteina della Caax box e clivata dalla metalloproteasi zinco-dipendente Ste24 (ZMPSTE24). (33)

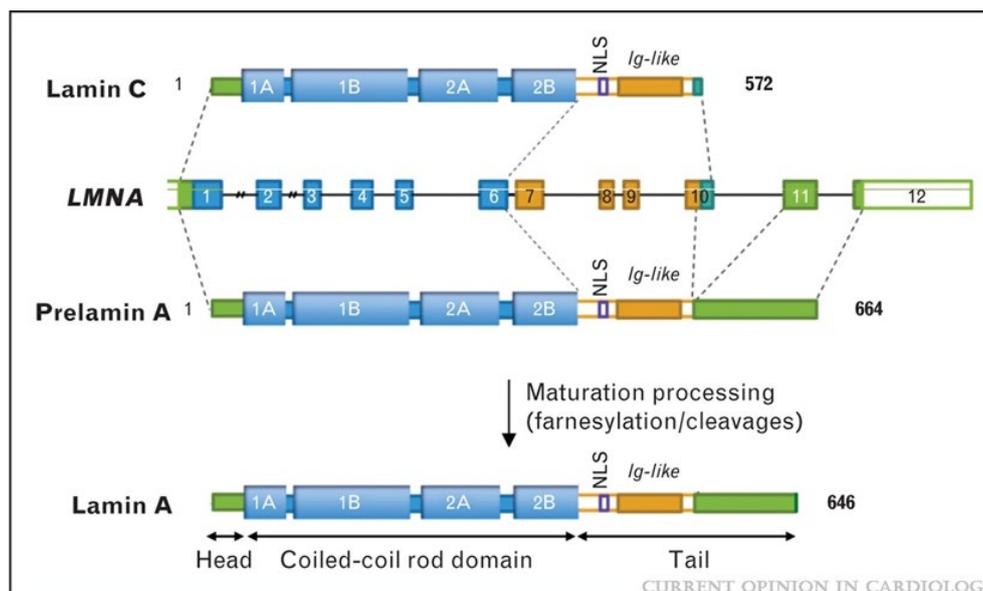


Figura 2 Rappresentazione schematica del gene *LMNA* e delle due principali isoforme di lamine di tipo A: la lamina A e la lamina C (5)

#### 1.4.2 Varianti genetiche di *LMNA*

Ad oggi sono state identificate oltre 500 varianti del gene *LMNA*, di cui circa 165 sono state associate alle cardiolaminopatie e sono state identificate oltre 300 varianti della proteina lamina A/C (database *UMD-LMNA*) (34). Le varianti sono distribuite lungo tutto il gene, ma quelle associate alle cardiolaminopatie sono localizzate più frequentemente nel rod domain e nel dominio ammino-terminale e più raramente nel tail domain (8,35). Si tratta prevalentemente di varianti di tipo missenso o troncanti, sebbene siano state segnalate anche mutazioni di tipo frameshift, non senso, delezioni o duplicazioni.

Per alcune varianti è stata descritta una correlazione genetico-clinica (**Tabella I**). Ad esempio, i pazienti portatori della variante non senso p.R225X, che determina la formazione di una proteina tronca, mostrano insorgenza precoce di fibrillazione atriale e disturbi di conduzione, frequentemente blocco atrioventricolare completo e sono ad alto rischio di morte cardiaca improvvisa, seppur in assenza di cardiomiopatia dilatativa (36). Inoltre, la variante puntiforme Asn195Lys è caratterizzata da un alto rischio sia di morte improvvisa che di trapianto cardiaco (36). Altre varianti risultano invece associate a una prognosi più favorevole, come la sostituzione di un singolo nucleotide p.(Arg331Gln), Dutch founder mutation (37). Infine, la variante E161K localizzata nell'esone 2, a livello dell' $\alpha$ -elica del rod domain, determina l'insorgenza unicamente di fibrillazione atriale, in assenza di DCM, disturbi di conduzione o problematiche muscolo-scheletriche (38).

LMNA Mutation	Disease	Clinical Features
p. N195K	DCM	Heart dilatation, fibrosis, arrhythmia, sinus bradycardia, atrioventricular conduction block, and atrial arrhythmias
p. R225X	DCM	Atrial fibrillation, complete atrioventricular block, ventricular tachyarrhythmia, and heart failure
p. K117fs	DCM	Atrioventricular block, ventricular tachycardia, atrial fibrillation, arrhythmias at the single-cell level
p.c.908_909 delCT	DCM	Atrial fibrillation, sick sinus syndrome, dilated cardiomyopathy
p.28insA	DCM	Dilated cardiomyopathy with conduction defects
p. T101	DCM, lipodystrophy, atypical progeroid syndrome	Hypertriglyceridemia, diabetes mellitus, insulin resistance, left ventricular myocyte hypertrophy, interstitial fibrosis
p. R377H	EDMD, LGMD, DCM	Muscular dystrophy, atrial fibrillation or flutter; conduction defects
p. S143p	DCM	Atrioventricular conduction defects, left ventricular systolic dysfunction and dilatation
p.H222P	EDMD	Muscle weakness, cardiac arrhythmias
p. K219T	DCM	Heart dilatation, atrial fibrillation, atrioventricular block
p. E161K	DCM	Dilatation, atrial fibrillation, conduction system diseases
p. R541C	DCM, LVNC	Reduced heart contractility, left ventricle dilatation, polymorphic premature ventricular contraction, diffuse ST-T change
p. R190W	DCM, LVNC, ARVC	Left ventricular noncompaction, conduction system defect, abnormal activation of ERK1/2 signaling and sarcomeric disorganization
p. R644C	DCM, LVNC, ARVC,	Also leads to lipodystrophy, atypical progeria, phenotypic diversity, and low penetrance associated with the R644C mutation
p. V445E	LVNC	Ventricular tachycardia/fibrillation
p.c.835 delG:p.Glu279ArgfsX201	RCM	Diastolic dysfunction, biatrial enlargement, atrial fibrillation, skeletal muscle weakness

Tabella I Esempi di correlazioni genetico-cliniche (39)

Tuttavia, l'impatto clinico della presenza di varianti del gene *LMNA* è estremamente variabile e complesso e rappresenta tutt'oggi un'avvincente sfida per la ricerca

traslazionale e la cardiogenetica. Infatti, non è stato identificato alcun hot-spot mutazionale e non è stata stabilita alcuna chiara correlazione genotipo-fenotipo per la maggior parte delle varianti. La correlazione genotipo-fenotipo è complicata da una importante variabilità fenotipica interindividuale ed intrafamiliarmente delle varianti di *LMNA*, suggerendo un possibile ruolo di altri geni modificatori. Il fenotipo finale, infatti, non deriva unicamente dalla variante genetica, ma è probabilmente influenzato da fattori ambientali e geni modificatori (40). Studi di sequenziamento dell'esoma e del genoma permetteranno di comprendere le basi genetiche delle cardiolaminopatie ed il meccanismo che porta al fenotipo finale.

L'analisi di clustering gerarchico di 91 varianti ha rivelato che quelle localizzate prima della sequenza di localizzazione nucleare (NLS) causano principalmente laminopatie della muscolatura striata; invece, le varianti localizzate dopo determinano lipodistrofie e sindromi progeroidi (41,42). La regione a monte del NLS ospita il rod domain, essenziale per la struttura e l'integrità del nucleoscheletro. La regione a valle del NLS probabilmente interagisce più strettamente con elementi non nucleoscheletrici, come la cromatina ed i fattori di trascrizione. Quindi, è stato ipotizzato che le laminopatie della muscolatura striata siano dovute ad un'alterata formazione della lamina nucleare ed a difetti principalmente meccanici, mentre le lipodistrofie e le sindromi progeroidi siano correlate ad alterazioni della regolazione di importanti vie di segnalazione cellulari (43).

È stato osservato che la maggior parte dei pazienti con cardiolaminopatia ad insorgenza precoce e decorso severo presenta varianti in-frame, come ad esempio sostituzioni missenso e delezioni in-frame, compatibili con la sintesi di una proteina completa, che però può acquisire una funzione tossica (toxic gain of function) o esercitare un effetto dominant negative (23). Inoltre, tali varianti sono frequentemente localizzate nel rod domain e nel dominio immunoglobulinico, che mediano rispettivamente la dimerizzazione e le interazioni proteiche. Pertanto, è stato ipotizzato che tali varianti alterino le interazioni molecolari proteina-proteina, con conseguente deregolazione di vie di trasduzione del segnale essenziali per la corretta funzione cellulare. Invece, nei casi ad esordio tardivo e con maggior coinvolgimento cardiaco, la variante altera il frame di lettura, determinando la produzione di una proteina tronca oppure non funzionante. In questo caso, nonostante vi sia una perdita di funzione dovuta all'aploinsufficienza, comunque

permane una funzione residua della proteina, che ritarda l'espressione clinica della malattia.

In particolare, l'analisi del database UMD-*LMNA* ha mostrato che le varianti di tipo non senso e di tipo frame-shift, sono più frequentemente associate a cardiolaminopatia. Tali varianti determinano una diminuzione del livello di lamina A/C, sia tramite il meccanismo di non sense mediated mRNA decay che per degradazione della proteina tronca. Sulla base di queste evidenze, è stato ipotizzato che i cardiomiociti siano particolarmente sensibili alla diminuzione dei livelli di proteina. (44,45). Questa ipotesi è stata recentemente supportata dall'evidenza che nei pazienti con cardiolaminopatia, il livello di mRNA di *LMNA* risulta più basso sia nel sangue che nel miocardio (46) ed è correlato con la perdita relativa di lamina A/C nei cardiomiociti. Il dosaggio dei livelli di mRNA di *LMNA* è attualmente in studio come test diagnostico non invasivo e pre-genetico (47).

### 1.4.3 Meccanismi di patogenicità genetici

I meccanismi di patogenicità ipotizzati sono:

- la perdita di funzione del gene *LMNA* secondaria all'aploinsufficienza o a mutazioni di tipo loss of function (48);
- la diminuzione dei livelli di proteina tramite non sense mrna mediated decay o degradazione delle proteine tronche o aberranti (45);
- dominanza negativa (23);
- varianti che determinano acquisizione di funzione tossica (toxic gain of function) (23);
- varianti che alterano la struttura tridimensionale della proteina, influenzandone la stabilità, la dimerizzazione e le interazioni con gli altri componenti della lamina nucleare ed i fattori nucleari, come nel caso delle sostituzioni dei residui altamente conservati R335 ed E347 del dominio coil2b (49).

Il differente meccanismo molecolare potrebbe contribuire a spiegare l'eterogeneità fenotipica osservata.

### 1.4.3.1 Aploinsufficienza

Gli esseri umani, come la maggior parte degli organismi complessi, hanno 2 copie della maggior parte dei geni nel loro genoma, tale ridondanza fornisce una copia di riserva per la maggior parte dei geni. Questi sono chiamati aplosufficienti e condividono caratteristiche comuni: sono i più conservati, tendono a formare network proteici diffusi, sono espressi precocemente nello sviluppo e sono altamente tessuto-specifici (43). In caso di aploinsufficienza una delle due copie del gene è mutata o non funziona correttamente e la quantità di prodotto genico (proteina) prodotta dalla copia rimanente non è sufficiente per garantire il normale funzionamento biologico. Tutti i geni che causano cardiomiopatia sono aploinsufficienti, con percentuali variabili tra i differenti tipi di mutazioni (50). Il gene *LMNA* presenta circa il 60% di varianti patogenetiche missenso ed il 40% di varianti troncanti (51).

La caratterizzazione cellulare ha rivelato che l'aploinsufficienza del gene *LMNA* causa progressive alterazioni delle proprietà elettrofisiologiche e l'insorgenza precoce di morte cellulare programmata delle cellule del sistema di conduzione, soprattutto a livello del nodo atrioventricolare. Invece, l'aploinsufficienza viene almeno inizialmente tollerata dai cardiomiociti, ma successivamente questi risentono dei ridotti livelli di lamina, con conseguente sviluppo di cardiomiopatia dilatativa, che può manifestarsi indipendentemente dalla malattia del sistema di conduzione. La migliore tolleranza dei cardiomiociti rispetto al tessuto di conduzione potrebbe essere dovuta alla presenza di meccanismi compensatori o ad una loro minore dipendenza dalla lamina. L'ipotesi di sviluppo indipendente della DCM rispetto alla malattia del sistema di conduzione implica che ci siano percorsi multipli attraverso i quali l'aploinsufficienza della lamina determina disfunzione cardiaca meccanica e/o elettrica (52).

### 1.4.4 Varianti genetiche di *LMNA* come predittori di rischio

Attualmente la presenza di varianti non missenso di *LMNA* (inserzioni, delezioni, mutazioni troncanti o del sito di splicing), è considerata un fattore di rischio indipendente per l'insorgenza di aritmie ventricolari maligne e morte cardiaca improvvisa ed è uno dei parametri dello score predittivo del rischio di tachiaritmie ventricolari potenzialmente fatali (53).

Pasotti e colleghi sono stati i primi ad individuare una relazione tra il tipo di variante ed il rischio di morte cardiaca improvvisa, definendo le varianti non missenso come predittori indipendenti di aritmie ventricolari maligne (54). Tale associazione è stata confermata nel corso degli anni da più studi (51,55), ma recentemente è stata messa in dubbio, in quanto è stato osservato che non tutte le varianti missenso hanno una buona prognosi (24). In particolare, sono state identificate varianti missenso a cattiva prognosi, tra cui si evidenzia la variante p.Arg190Trp, descritta da più studi e per la prima volta ad Arbustini et al. nel 2002 (19), che si associa ad alta incidenza di morte cardiaca improvvisa, scompenso cardiaco e trapianto.

Il discordante riscontro sulla prognosi delle varianti missenso potrebbe essere ricondotto alla recente riclassificazione di alcune varianti incluse nei primi studi come non patogene o VUS; pertanto, l'inclusione di varianti non patogene potrebbe spiegare la diversa prognosi osservata (56). Inoltre, è possibile che non tutte le varianti patogene missenso abbiano la stessa prognosi. Pertanto, sono necessari ulteriori studi volti a chiarire il significato clinico di specifiche mutazione e risulta essenziale sviluppare registri internazionali che condividano informazioni cliniche sulle diverse mutazioni del gene *LMNA*, in modo da ottenere informazioni prognostiche utili a stratificare il rischio di morte cardiaca improvvisa (56). Per affinare la stratificazione del rischio, è fondamentale considerare la variante specifica come variabile indipendente anziché raggruppare le mutazioni in cluster basati sul tipo, sulla posizione o sul gene. Sebbene questi cluster possano fornire una panoramica generale, non sono sufficienti per consentire una vera medicina personalizzata (57).

#### **1.4.5 Varianti di significato incerto (variants of unknown significance: VUS)**

Un problema emergente per molte malattie genetiche è il crescente riscontro di varianti di incerto significato (VUS), di cui attualmente non è noto l'impatto clinico. In questo scenario si colloca lo studio di Lazarte et al che ha valutato il contributo di rare varianti missenso e loss of function nel gene *LMNA* sulla predisposizione allo sviluppo di aritmie e cardiopatia nella popolazione adulta. E' stato riscontrato che i soggetti di mezza età portatori di varianti missenso del gene *LMNA*, non classificate come patogene o probabilmente patogene, sviluppano maggiormente cardiopatie, in particolare fibrillazione atriale, rispetto ai soggetti in cui la variante è assente (58).

#### 1.4.6 Varianti *LMNA* e Cardiomiopatia Aritmogena

Nel 2011 Quarta et al. hanno per la prima volta individuato varianti del gene *LMNA* (R190W, R644C, R72C e G382V) in pazienti con Cardiomiopatia Aritmogena (arrhythmogenic cardiomyopathy: ACM). In particolare, le varianti R190W e R644C causano non solo ACM, ma anche DCM e LVNC. Inoltre, la variante R644C può anche determinare lipodistrofia e progeria atipica, mostrando quindi una estrema diversità fenotipica. I pazienti con le quattro varianti individuate mostravano tutti dilatazione del ventricolo destro e disfunzione sistolica (28). L'esame istologico del miocardio ventricolare destro dei pazienti con R190W e G382V ha mostrato una perdita di più del 50% dei miociti e una estensiva sostituzione con fibrosi interstiziale e grasso. È interessante notare come in un paziente la colorazione immunohistochimica abbia mostrato una riduzione significativa dell'espressione della placoglobina nei dischi intercalari del miocardio, fenomeno descritto anche in pazienti con ACM causata da varianti dei geni desmosomiali (28). Un'overlapping fenotipico tra le cardiolaminopatie e la ACM è stato descritto anche da Vailtuelle et al. (59).

Successivamente sono state individuate altre varianti del gene *LMNA* determinanti ACM. Ad esempio, la variante non senso c.544C>T è stata associata a due fenotipi distinti. Infatti, mentre nella maggior parte dei casi porta all'insorgenza di cardiomiopatia aritmogena severa con alto rischio di morte cardiaca improvvisa, in un sottogruppo di pazienti causa insorgenza precoce di scompenso cardiaco altamente progressivo. In questo sottogruppo è stata riscontrata anche la presenza di VUS dei geni *ABCC9* e *SCN5A*, descritti in letteratura come gene modifiers (60).

La variante c.418\_438dup, caratterizzata dalla duplicazione di 21 nucleotidi a livello dell'esone 2 del gene *LMNA* e localizzata nel coil 1B della  $\alpha$ -elica del rod-domain, è stata riscontrata in un numeroso nucleo familiare caratterizzato dalla compresenza di ACM, DCM, disturbi di conduzione, aritmie e morte cardiaca improvvisa (27).

La variante p.A242V invece è stata associata all'insorgenza di ACM con scompenso cardiaco destro e tromboembolismo cerebrale (61).

Infine, in letteratura è stato descritto un caso di un paziente affetto da malattia di Charcot Marie Tooth di tipo 2B1 e ACM, determinate entrambe probabilmente dalla rara variante missenso del gene *LMNA*(c.1044G>T) (62).

## 1.5 PATOGENESI

### 1.5.1 Lamìne e lamina nucleare

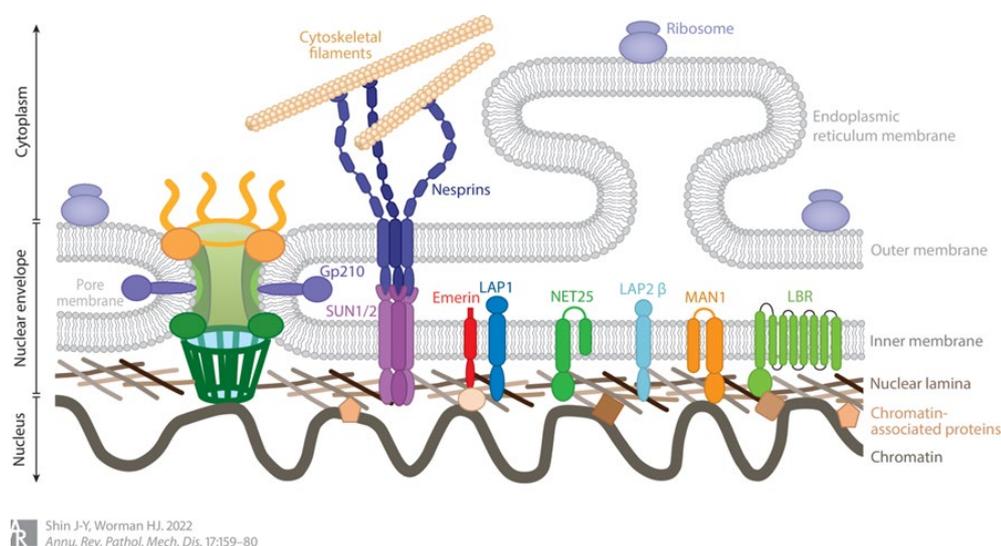
Le proteine lamìne sono filamenti intermedi di tipo V e nei mammiferi si distinguono in lamìne di tipo A, codificate dal gene *LMNA* e lamìne di tipo B, codificate dai geni *LMNB1* e 2 (63). Le lamìne di tipo A, di cui le principali isoforme sono la lamìna A e C, sono importanti componenti della lamina nucleare, intricata rete di filamenti proteici associata alla superficie nucleoplasmatica della membrana nucleare interna (64). La lamina nucleare costituisce insieme alla matrice nucleare il nucleoscheletro ed è una struttura multimerica, la cui unità strutturale di base è rappresentata dai dimeri di lamìna. Infatti, una volta sintetizzate le lamìne dimerizzano unendo i loro tratti a  $\alpha$ -elica. Successivamente gli omodimeri, si associano tra loro prima in direzione testa-coda, formando lunghe fibre polimeriche, e poi lateralmente, formando così una rete: la lamina nucleare (65).

I reticoli filamentosi interconnessi di lamìna sono situati tra la membrana nucleare interna e l'eterocromatina periferica; quindi, forniscono un supporto strutturale al nucleo ed ancorano la cromatina alla periferia nucleare, modellandola in strutture di ordine superiore. A differenza delle lamìne di tipo B associate principalmente alla cromatina trascrizionalmente inattiva, le lamìne A e C sono presenti anche all'interno del nucleo e si associano sia all'eterocromatina che all'eucromatina (33).

Le lamìne data la loro posizione strategica interagiscono non solo tra loro e con i fattori di trascrizione, il DNA e la cromatina, ma anche con diverse proteine integrali della membrana nucleare interna, tra cui le proteine SUNs, il recettore della lamìna B (LBR), l'emerina, il polipeptide associato alla lamìna (LAP1 e LAP2 $\beta$ ), MAN1 (**Figura 3**) (33,66). In particolare, le lamìne interagiscono con il complesso LINC, ponte di collegamento tra nucleoscheletro e citoscheletro (67). Il nucleo del complesso LINC è costituito dalle proteine nesprine, dotate di dominio KASH e localizzate a livello della membrana nucleare esterna, che interagiscono nello spazio perinucleare con i domini luminali delle proteine integrali della membrana nucleare interna, dette SUN (Sad1p/UNC-84). Le proteine SUN a loro volta si

legano alle lamine, le proteine del poro nucleare e altre proteine nucleari. Inoltre, i domini citoplasmatici di diverse nesprine (da 1 a 4) interagiscono direttamente o indirettamente con l'actina, i microtubuli ed i filamenti intermedi. Queste connessioni forniscono una rete nucleocitoscheletrica, che traduce i segnali meccanici della matrice extracellulare in modifiche dell'organizzazione della cromatina e dell'attività trascrizionale (68).

La maggior parte delle proteine della membrana nucleare sembra essere espressa ubiquitariamente in diversi tipi cellulari. Tuttavia, sono state evidenziate differenze nel proteoma della membrana nucleare di diverse cellule e tessuti, che potrebbe spiegare la natura tessuto-specifica delle laminopatie (33).



*Figura 3* Rappresentazione schematica di selezionate proteine transmembrana delle membrane interna, del poro ed esterna dell'involucro nucleare. Le proteine transmembrana rappresentative che si concentrano nella membrana nucleare interna sono: SUN1/2, emerina, LAP1, NET25, LAP2  $\beta$ , MAN1 e LBR. Gp210 è una proteina integrale rappresentativa della membrana del poro. Le nesprine si concentrano nella membrana nucleare esterna legandosi, all'interno dello spazio perinucleare, ai domini luminali delle proteine SUN e si legano anche ai filamenti del citoscheletro (33).

### 1.5.2 Funzioni delle lamine

La lamina nucleare era inizialmente considerata una mera struttura di sostegno per l'involucro nucleare, ma nel corso degli anni numerosi studi hanno rivelato che in realtà le lamine svolgono una vasta gamma di funzioni. Infatti, oltre ai loro significativi ruoli di supporto meccanico, le lamine sono coinvolte nella riparazione e replicazione del DNA, nell'organizzazione della cromatina, nell'espressione genica, nella regolazione del ciclo cellulare, nella trasduzione dei segnali cellulari

e nelle interazioni con il citoscheletro (69–71). È stato anche ipotizzato che l'espressione delle lamine di tipo A sia regolata in modo tessuto-specifico e sia implicata nella differenziazione terminale dei tessuti.

#### **1.5.2.1 Supporto strutturale**

La lamina nucleare è essenziale per il mantenimento dell'omeostasi meccanica nucleare e contribuisce alla resistenza allo stress meccanico (72). Difetti delle lamine determinano alterazioni della morfologia e della reologia nucleare. Recentemente è stato osservato che differenze nell'espressione delle lamine di tipo A correlano con la rigidità dei tessuti; sono infatti maggiormente espresse a livello osseo e muscolare rispetto al tessuto nervoso ed adiposo (73).

#### **1.5.2.2 Meccanotrasduzione**

Le lamine giocano un ruolo essenziale nel collegamento tra nucleo e citoscheletro e sono uno dei componenti chiave del complesso LINC. Difetti delle lamine alterano la funzionalità del complesso LINC e determinano un disequilibrio tra le forze a livello intra ed extracellulare ed alterata meccanotrasduzione, con conseguente incapacità del nucleo di percepire (meccanosensing) e rispondere correttamente agli stress meccanici (74). È stato ipotizzato che le cardiolaminopatie derivino proprio dalla sostanziale interruzione dei processi meccanobiologici a livello nucleare e che il grado di tale alterazione sia direttamente associato alla severità del fenotipo clinico (75).

#### **1.5.2.3 Organizzazione della cromatina**

Le lamine presentano un'elevata affinità di legame per il DNA e si associano a regioni coinvolte nella trascrizione, nella replicazione del DNA, nella condensazione cromosomica e nell'organizzazione della cromatina.

In particolare, i polimeri di lamina ancorano grandi regioni di eterocromatina, definiti domini associati alla lamina (LADs), alla periferia nucleare, influenzando l'organizzazione spaziale della cromatina (76). I LADs presentano markers istonici repressivi come H3K9me2/3 e H3K27me3; pertanto, i geni ad essi associati sono per lo più inattivi. Sebbene la maggior parte dei LADs sia conservata tra i tipi cellulari (LAD costitutivi (cLADs)), alcune interazioni cromatina-lamina nucleare sono rilevate solo in specifici tipi cellulari (LAD facoltativi (fLADs)). È stato proposto che le interazioni genoma-lamina nucleare abbiano un ruolo chiave nelle

decisioni sul destino cellulare, attivando o reprimendo geni chiave per l'identità cellulare (39).

Recentemente è stato evidenziato il ruolo delle lamine anche nella regolazione dell'espressione di geni localizzati al centro del nucleo (77).

#### **1.5.2.4 Regolazione dell'espressione genica**

Le lamine nucleari modulano attivamente l'espressione genica, interagendo sia direttamente con la cromatina, che con regolatori trascrizionali. Infatti possono influenzare l'espressione genica, sequestrando tali fattori alla periferia nucleare e modificando l'assemblaggio dei complessi trascrizionali (78). Inoltre, la fosforilazione delle lamine in interfase marca una frazione di lamine all'interno del nucleo, che lega la cromatina in zone differenti dai LADs, preferenzialmente a livello di enhancers di geni attivamente trascritti, influenzando l'espressione genica (79).

#### **1.5.2.5 Mediazione delle vie di segnalazione cellulare**

Le lamine interagiscono in modo diretto o indiretto con molteplici proteine, e probabilmente il loro ruolo tessuto-specifico può essere ricondotto alle differenti proteine con cui interagiscono. Attraverso le loro interazioni con i complessi LINC, le proteine citoscheletriche e la cromatina, le lamine regolano varie vie di trasduzione del segnale intracellulare, che influenzano la crescita, la sopravvivenza, la migrazione e la differenziazione cellulare (**Figura 4**). Negli ultimi anni un gran numero di studi ha identificato vie molecolari distinte disregolate nei pazienti con mutazioni patologiche di *LMNA*, nei modelli murini o nelle cellule staminali portatrici di mutazioni di *LMNA*, tra cui le principali sono le pathway di: Hippo, MAPK, JNK, Wnt/ $\beta$ catenina, PDGF, Notch e Hedgehog (70,75,80).

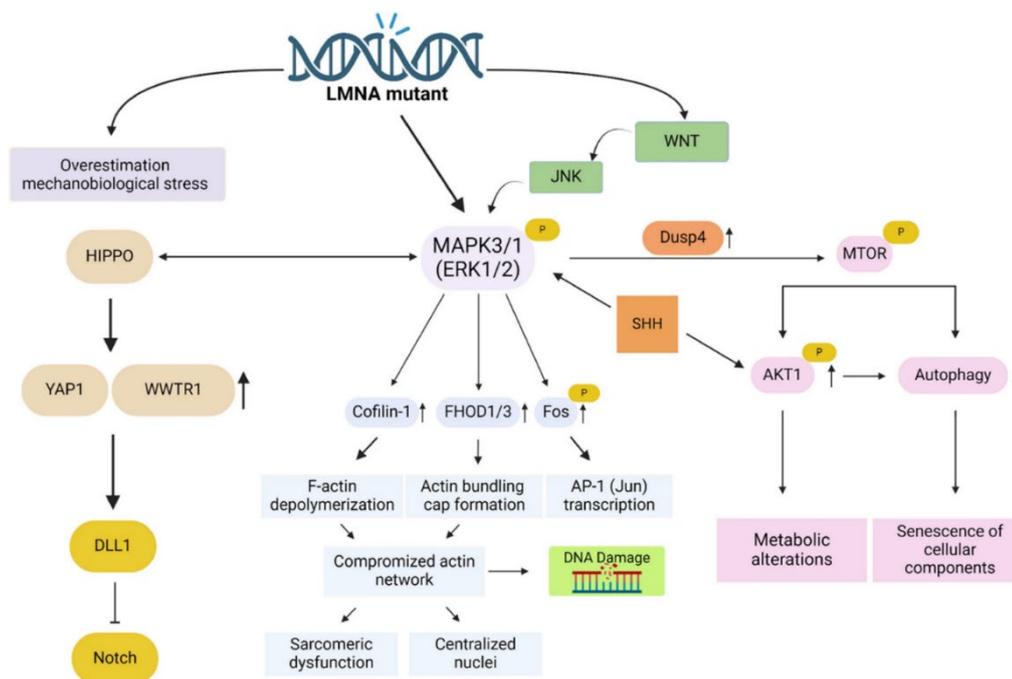


Figura 4 Raffigurazione schematica delle vie di trasduzione del segnale influenzate dalla mutazione del gene *LMNA* (75).

### 1.5.3 Ipotesi patogenetiche

Fin dalla scoperta del gene *LMNA* come causa delle laminopatie sono stati compiuti numerosi sforzi per stabilire una correlazione causale tra i difetti morfologici e funzionali presenti a livello cellulare e gli eterogenei fenotipici clinici. Tenendo conto delle diverse funzioni della lamina nucleare, nel corso degli anni sono state suggerite tre ipotesi patogenetiche: l'ipotesi meccanica, l'ipotesi dell'espressione genica e l'ipotesi della tossicità cellulare (81).

#### 1.5.3.1 Ipotesi meccanica

Secondo l'ipotesi meccanica le alterazioni morfologiche e reologiche dei nuclei delle cellule con mutazione *LMNA* rappresentano la base molecolare delle cardiolaminopatie (82). La disgregazione della lamina nucleare causa un aumento della fragilità nucleare e una maggiore suscettibilità allo stress meccanico; infatti, i tessuti sottoposti a maggiori sollecitazioni meccaniche, come il tessuto muscolare e cardiaco, sono i più frequentemente colpiti. I cardiomiociti provenienti da pazienti o modelli murini con mutazioni del gene *LMNA*, se sottoposti a sollecitazioni meccaniche, presentano significativo aumento dei danni al DNA, con conseguente arresto del ciclo cellulare. Pertanto, l'elevata morte cellulare può essere dovuta

all'incapacità dei cardiomiociti mutati di rispondere adeguatamente allo stress meccanico (83).

Dato il ruolo delle lamine nel complesso LINC, una loro alterazione determina il disaccoppiamento nucleo-citoplasma, con conseguente difettosa meccano-trasduzione, compromessa resistenza allo stress e ridotta risposta ipertrofica al sovraccarico pressorio (ipotesi della meccano-trasduzione) (74).

Inoltre, l'interruzione della connessione nucleo-citoscheletrica aumenta il dispendio energetico della contrazione e la richiesta di ossigeno, simulando uno stress ipossico anche in assenza di esercizio fisico. A loro volta, le condizioni ipossiche aumentano la produzione di ROS, con aumento anche dello stress ossidativo. Quindi, nei cardiomiociti con mutazione della lamina, sia lo stress ipossico che quello ossidativo risultano continuamente indotti, anche in condizioni di riposo. I ROS danneggiano ulteriormente la connessione nucleo-citoplasmatica, in quanto i fattori di trasporto nucleare sono i principali bersagli cellulari degli agenti ossidanti (27). L'eccessivo stress cellulare, dovuto all'insieme dello stress meccanico, ipossico ed ossidativo determina morte cellulare. L'apoptosi dei cardiomiociti rappresenta il substrato per lo sviluppo di aritmie potenzialmente fatali. L'effetto proaritmogeno dell'apoptosi può essere ricondotto a due meccanismi principali:

- il cardiomiocita, durante il processo di morte cellulare, va incontro a fasi di ipereccitabilità o ad automatismo;
- la presenza dei cardiomiociti apoptotici altera il processo di normale attivazione del muscolo cardiaco, costituendo così il substrato anatomico per lo sviluppo di aritmie da rientro. In particolare, l'apoptosi dei cardiomiociti del sistema di conduzione potrebbe causare sia tachiaritmie che bradiaritmie, compreso il blocco AV completo.

La mutazione del gene *LMNA* determina anche un'alterazione del network di  $\alpha$ -tubulina, microtubulo componente del citoscheletro cellulare, tramite la diminuzione dei livelli di acetilazione dell' $\alpha$ -tubulina (84). Ciò impedisce la corretta localizzazione della connessina 43, coinvolta nella formazione delle gap junctions, con conseguente alterazione delle comunicazioni tra i cardiomiociti ed in particolare, della propagazione dell'impulso elettrico (46,85). Questo potrebbe

essere un altro possibile meccanismo alla base dei disturbi di conduzione tipicamente osservati nelle cardiolaminopatie (86,87). La stabilizzazione dei microtubuli con paclitaxel ha migliorato i disturbi di conduzione intraventricolare (85). Inoltre, è stato riportato che anche la via di trasduzione del segnale della MAPK, frequentemente alterata dalle mutazioni *LMNA*, influenza attraverso JNK l'espressione della connessina 43, evidenziando ulteriormente come l'alterazione delle gap junctions possa essere un potenziale meccanismo aritmogeno (88).

### **1.5.3.2 Ipotesi dell'espressione genica**

L'ipotesi dell'espressione genica sostiene che le varianti della lamina non solo alterino la trasduzione del segnale cellulare, ma determinino anche modifiche nell'organizzazione della cromatina, modificando direttamente l'espressione genica (83).

#### **1.5.3.2.1 Ipotesi della cromatina**

Date le molteplici e complesse interazioni delle lamine con la cromatina, le varianti del gene *LMNA* sovvertono la struttura e l'organizzazione della cromatina, con attivazione di programmi aberranti di espressione genica (89,90). In particolare, la lamina A/C ancora i geni coinvolti nel differenziamento delle cellule staminali in cardiomiociti alla periferia nucleare, reprimendone l'espressione. Infatti, da un lato silenzia i geni della differenziazione cellulare e della morfogenesi cardiaca come *Gata4/6*, *Bmps*, *Wnts*, *Myl4* e dall'altro limita la trascrizione dei geni strutturali e di contrazione cardiaca, come *Ryr2*, *Mybpc3*, *Adrb2*. La perdita di funzione del gene *LMNA* determina l'over-espressione di tali geni, con precoce differenziazione dei cardiomiociti e conseguente sviluppo cellulare alterato (91).

Recentemente l'ipotesi della cromatina è stata associata a specifiche varianti, ad esempio la variante p.K219T del gene *LMNA* determina la localizzazione del gene *SCN5A* alla periferia nucleare, reprimendone la trascrizione, con conseguente riduzione della corrente del sodio ed alterata eccitabilità cellulare (92).

#### **1.5.3.2.2 Ipotesi della trasduzione del segnale**

Numerosi studi hanno dimostrato il ruolo delle lamine nella regolazione delle vie di trasduzione del segnale ed hanno suggerito che l'alterata segnalazione citoplasma-nucleo sia un driver chiave delle cardiolaminopatie.

Le vie di segnalazione profibrotiche della MAP chinasi (ERK1/2, JNK e p38 $\alpha$ ) e AKT/mTOR sono iperattivate nel cuore dei topi *LMNAH222P*, con significativo aumento della fibrosi miocardica e conseguente disfunzione del ventricolo sinistro ed insufficienza cardiaca (93–95). L'inibizione parziale delle pathways di ERK e JNK riduce significativamente la fibrosi cardiaca e previene lo sviluppo della dilatazione del ventricolo sinistro e la diminuzione della frazione di eiezione cardiaca (96). L' aberrante attivazione di queste vie del segnale precede la disfunzione cardiaca, suggerendo che sia una conseguenza diretta delle alterazioni delle lamine piuttosto un effetto aspecifico. Recenti studi hanno mostrato che sia la segnalazione della MAP chinasi che quella di AKT/mTOR sono regolate in modo anomalo anche nel cuore dei topi *LMNA*<sup>-/-</sup> e nel tessuto cardiaco umano espantato da pazienti con cardiolaminopatia (5).

Queste pathways non sono esclusive e possono essere integrate in un unico meccanismo. Infatti, la lamina A/C mutata determina un aumento dei livelli di TGF $\beta$ 2 e l'attivazione TGF $\beta$ 2-dipendente di ERK1/2 ed AKT/mTOR, con conseguente fibrosi e perdita della detossificazione autofagica (97). La proteina DUSP4 potrebbe rappresentare un ulteriore anello di collegamento tra le MAP chinasi ed AKT/mTOR (98). DUSP4 è una fosfatasi che regola la cascata di ERK1/2 a livello nucleare. L'espressione aumentata di DUSP4 è stata osservata in pazienti con cardiomiopatia dilatativa idiopatica ed è stata associata al rimodellamento cardiaco (99).

Alterazioni della lamina determinano anche disregolazione della via di trasduzione del segnale Wnt/ $\beta$ -catenina, mediante alterazioni della localizzazione dell'emerina, con conseguente differenziazione cellulare aberrante e sviluppo di tessuto fibroadiposo. E' stato ipotizzato che questo possa essere uno dei meccanismi alla base dello sviluppo di cardiomiopatia aritmogena da mutazione *LMNA* (75).

### 1.5.3.3 Ipotesi della tossicità cellulare

Negli ultimi anni è emersa l'ipotesi della tossicità cellulare: la tossicità della prelamina A è centrale per diversi sottotipi di laminopatia, principalmente per i disordini dell'invecchiamento precoce (5). La variante *LMNAL306R*, causa sindrome da invecchiamento precoce con un fenotipo severo di ACM. Le cellule con questa variante presentano nuclei dismorfici, livelli elevati di danni al DNA e vanno incontro a senescenza cellulare prematura (100). Inoltre, i cardiomiociti

derivati da cellule staminali con la variante *LMNAR225X* mostrano difetti nella morfologia nucleare e senescenza prematura sotto stress. Infine, la mutazione *LMNA* p.T655fsX49 causa accumulo di prelamina A non-farnesilata, portando a difetti nella conduzione cardiaca negli esseri umani. Questi studi forniscono le prove più chiare fino ad ora che i meccanismi di invecchiamento precoce potrebbero essere in parte responsabili dei fenotipi delle cardiolaminopatie.

#### **1.5.4 Patogenesi della cardiomiopatia aritmogena**

Ad oggi la relazione tra le varianti del gene *LMNA* e la degenerazione fibro-adiposa tipica della ACM non è chiara. Tuttavia, è noto che alcune laminopatie sono caratterizzate da alterazioni nella localizzazione adiposa e dalla sostituzione del tessuto muscolare scheletrico con tessuto fibro-adiposo (1).

Nei cardiomiociti con varianti *LMNA* è stata osservata una riduzione della colorazione della plakoglobina (staining), descritta anche nei pazienti con ACM e varianti dei geni desmosomiali (28). Diversi studi hanno suggerito che l'anomala localizzazione della plakoglobina sia associata ad una riduzione della trasduzione del segnale di Wnt/ $\beta$ -catenina, attraverso i fattori di trascrizione Tcf/Lef1(101). La soppressione di questa pathway è nota per causare adipogenesi, fibrogenesi e apoptosi, segni istologici patognomici della malattia (102). E' possibile che l'anomala interazione della lamina e dell'emerina con Wnt/ $\beta$ -catenina ed il recettore PPAR- $\gamma$  sia alla base del fenotipo aritmogeno, osservato nei pazienti con mutazione del gene *LMNA* (28,103).

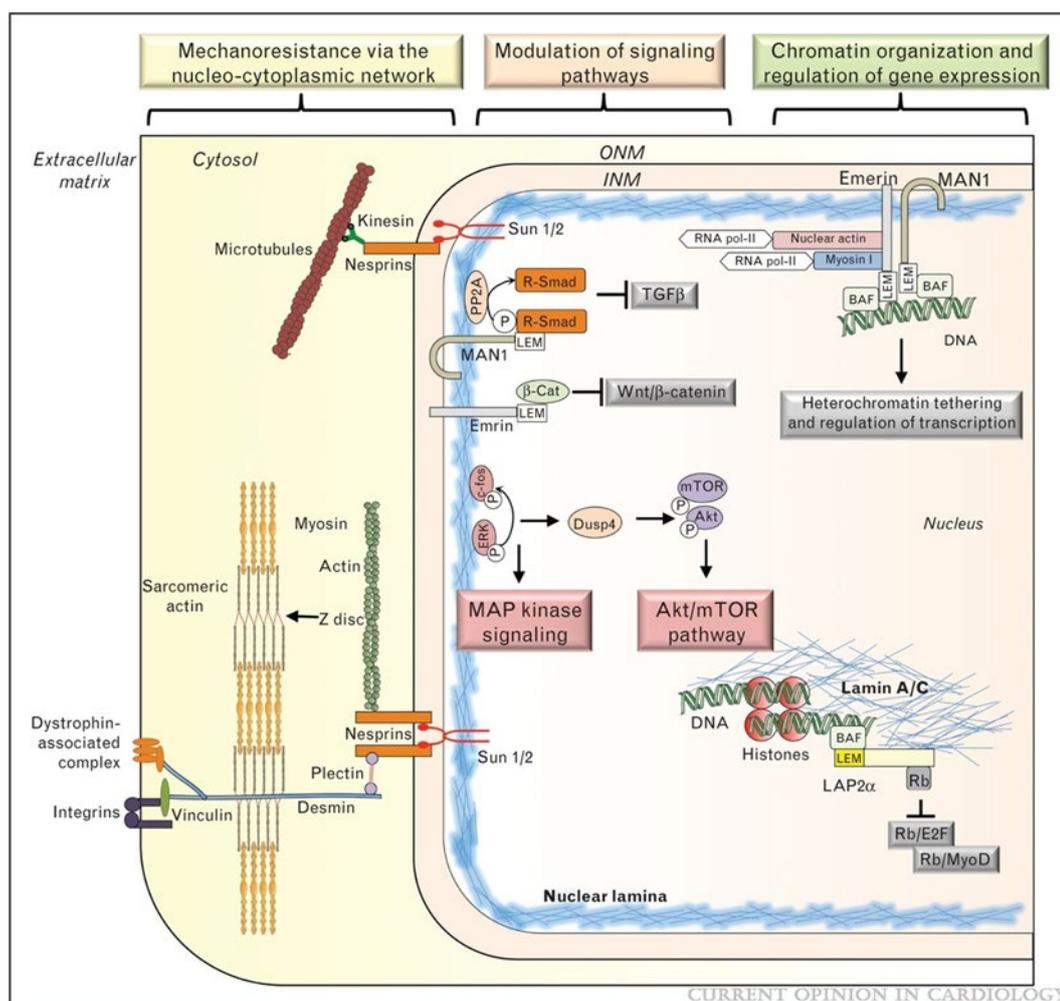


Figura 5 Rappresentazione schematica delle ipotesi patogenetiche, che evidenzia il ruolo delle lamine nel mantenimento dell'integrità meccanica cellulare, nella regolazione delle vie di segnalazione e nell'organizzazione della cromatina/regolazione dell'espressione genica. Le lamine di tipo A formano una struttura molecolare sotto la INM e nel citoplasma e, tramite interazioni con proteine integrali dell'involucro e diversi fattori di trascrizione (c-fos, Rb...), regolano importanti vie di segnalazione come le vie differenzianti Rb/E2F o Rb/MyoD e le cascate TGFβ o β-catenina coinvolte nel rimodellamento cardiaco. Le lamine di tipo A svolgono anche un ruolo critico nella modulazione della trasduzione del segnale delle MAP chinasi (ad es. ERK1/2) e delle vie AKT/mTOR attraverso l'espressione di DUSP4. Attraverso le loro interazioni con proteine transmembrana come SUN1/2 e Nesprine, le lamine di tipo A formano complessi network nucleocitoscheletrici con microfilamenti di actina citoplasmatica, microtubuli e filamenti intermedi citoplasmatici. Questi network collegano la lamina nucleare alla matrice extracellulare e forniscono ancoraggio nucleare e resistenza allo stress meccanico. BAF, fattore di blocco all'autointegrazione; LAP, proteina associata alla lamina; ONM, membrana nucleare esterna; Rb, proteina retinoblastoma; TGFβ, fattore di crescita trasformante β.

## 1.6 MANIFESTAZIONI CLINICHE

Le cardiolaminopatie si caratterizzano per alta penetranza, esordio giovanile, decorso rapido e progressivo e prognosi infausta (21). Si manifestano frequentemente con presenza di DCM, disturbi di conduzione atrioventricolare, aritmie atriali e ventricolari, con conseguente alto rischio di morte cardiaca

improvvisa o scompenso cardiaco severo (**Figura 6**) (6). Elemento caratterizzante è la coesistenza di anomalie strutturali ed instabilità elettrica e spesso le alterazioni elettriche precedono la disfunzione meccanica, con intervallo variabile da alcuni anni fino a più di un decennio (15). Infatti, le aritmie colpiscono il 92% dei pazienti a partire dalla terza decade di vita e si riscontrano in più del 50% dei soggetti nonostante la frazione d'eiezione del ventricolo sinistro risulti ancora normale (51).

La fibrosi miocardica è considerata dal punto di vista fisiopatologico alla base sia della disfunzione elettrica che meccanica (104). In particolare la fibrosi, diretta conseguenza della mutazione del gene *LMNA*, coinvolge inizialmente l'interstizio e successivamente il setto interventricolare, in prossimità del sistema di conduzione (105). Recenti studi hanno riscontrato che la maggior parte delle aritmie ventricolari clinicamente rilevanti ha origine proprio dal setto (106). Inoltre, la fibrosi miocardica è stata riscontrata nei pazienti con mutazione *LMNA* affetti da aritmie o disturbi di conduzione, indipendentemente dalla dilatazione e/o disfunzione del ventricolo sinistro (107).

Data la prognosi severa con rapida progressione ed alto rischio di morte cardiaca improvvisa o aritmie ventricolari maggiori, indipendentemente dallo sviluppo della disfunzione ventricolare sinistra, risulta fondamentale interpretare correttamente i dati clinici, che nel contesto delle cardiolaminopatie assumono particolare rilevanza.

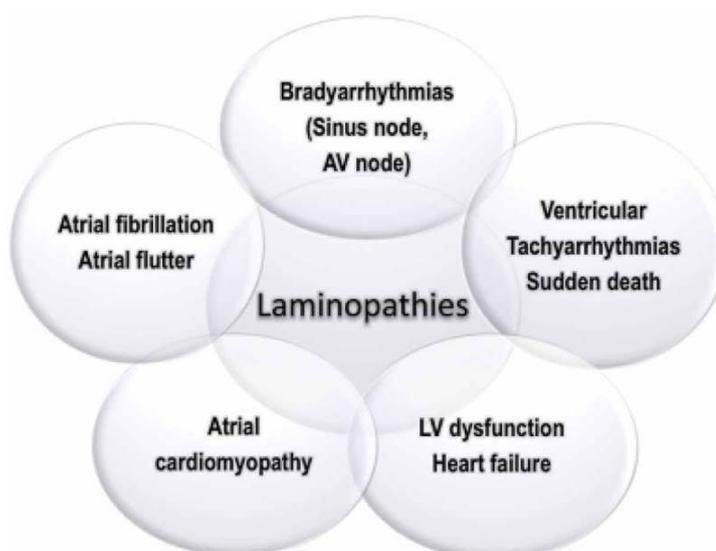


Figura 6 Spettro delle cardiolaminopatie. Legenda: AV: atrio-ventricular; LV: left ventricular (108).

## 1.6.1 Disfunzione meccanica

### 1.6.1.1 Cardiomiopatia dilatativa

La DCM è definita dalla presenza di dilatazione del ventricolo sinistro e globale o regionale disfunzione sistolica, non spiegate esclusivamente da condizioni di anomalo sovraccarico o CAD (109). Il fenotipo della DCM correlato al gene *LMNA* non presenta caratteristiche uniche in grado di differenziarlo chiaramente dalla DCM correlata ad altri geni o di origine non genetica (51,110,111). Tuttavia, il riscontro di coinvolgimento muscolare, anche se la CPK è elevata solo in un terzo dei casi, blocchi atrioventricolari e fibrillazione atriale o flutter atriale sono considerati come "red flags", che predicano un'alta probabilità di cardiomiopatia (8,112).

Le varianti del gene *LMNA* possono causare dilatazione isolata del ventricolo sinistro (left ventricle: LV), disfunzione isolata del LV o DCM. Tuttavia, una marcata dilatazione ed assottigliamento della parete del LV non sono caratteristici. Infatti, la dilatazione del ventricolo sinistro può essere di grado variabile e spesso è assente, configurando il quadro di cardiomiopatia con ventricolo sinistro non dilatato (81,113).

La diagnosi precoce di DCM *LMNA*-correlata è spesso difficile perché generalmente la dilatazione ventricolare sinistra è lieve, soprattutto all'esordio, e può risultare asintomatica nella maggior parte dei pazienti per molti anni. Solo la metà dei pazienti ha una frazione di eiezione del ventricolo sinistro (LVEF) inferiore al 50% alla prima valutazione. Tuttavia, sono stati descritti anche casi di cardiomiopatia ad insorgenza precoce e con rapido calo della frazione di eiezione ventricolare sinistra, con normale o lieve aumento del volume del ventricolo sinistro (114).

L'insorgenza è età-dipendente, con sviluppo del fenotipo tra i 20 e i 39 anni in due terzi dei casi e penetranza completa entro i 60 anni (19). Generalmente, le manifestazioni aritmiche precedono la comparsa di DCM, ma possono anche essere associate al momento della diagnosi (6,112).

Tipicamente la DCM associata a mutazione del gene *LMNA* presenta un'evoluzione rapida verso condizioni molto gravi e potenzialmente fatali, con una storia naturale peggiore rispetto ad altre forme di DCM (54,110,115). Durante un follow up di 7 anni, il 24% dei pazienti con fenotipo normale alla prima valutazione sviluppa

disfunzione del ventricolo sinistro e il 7% insufficienza cardiaca (51). La modalità di presentazione, con manifestazioni cliniche isolate o combinate, non risulta predittiva dell'outcome. Invece, la presenza di disfunzione del ventricolo sinistro all'esordio, definita come frazione di eiezione <50%, si associa ad insufficienza cardiaca refrattaria o morte (51). La classe funzionale III-IV della New York Heart Association risultata essere un predittore di eventi cardiaci maggiori (54).

Inoltre, la presenza di varianti del gene *LMNA* si associa ad un basso tasso di rimodellamento inverso del ventricolo sinistro (LVRR). Il LVRR, che rappresenta uno dei principali obiettivi terapeutici nel trattamento dello scompenso, è meno frequente nei pazienti con laminopatia (116,117).

### **1.6.1.2 Cardiomiopatia aritmogena**

La Cardiomiopatia Aritmogena (ACM) è una patologia cardiaca caratterizzata da necrosi dei cardiomiociti e sostituzione fibro-adiposa, che predispone alla disfunzione ventricolare e all'insorgenza di aritmie ventricolari maggiori. Recentemente la presenza di varianti del gene *LMNA* è stata riconosciuta come possibile causa di ACM (109). Il fenotipo dei pazienti con variante del gene *LMNA* è simile a quello riportato in caso di varianti dei geni desmosomiali, infatti i pazienti rispettano i criteri diagnostici di ACM ed anche a livello istopatologico non sono state riscontrate differenze significative (28,118). Tuttavia, i pazienti con ACM *LMNA*-correlata si caratterizzano per la presenza di aritmie atriali, disturbi di conduzione e maggiore coinvolgimento del ventricolo sinistro (28). Presentano età media all'esordio significativamente maggiore rispetto ai pazienti con varianti dei geni desmosomiali ed importante bradicardia alla diagnosi, con maggior necessità di impianto di pacemaker. Inoltre, le caratteristiche elettrocardiografiche tipiche della ACM, come ad esempio l'onda  $\epsilon$  e le onde T invertite nelle derivazioni precordiali, sono rare nei pazienti con cardiolaminopatia (29,60).

La mutazione del gene *LMNA* è stata riscontrata anche in casi di ACM con sviluppo di scompenso cardiaco destro e complicanze tromboemboliche, soprattutto a livello cerebrale (61).

Analogamente alle cardiolaminopatie, che possono associarsi a manifestazioni muscolo-scheletriche ed interessamento del sistema nervoso periferico, anche per l'ACM *LMNA*-correlata è stata descritto un caso di associazione con Charcot Marie Tooth tipo 2b1(62).

Inoltre, è stata descritta una mutazione del gene *LMNA* che presenta due fenotipi distinti all'interno della stessa famiglia, uno aritmogeno con alta incidenza di morte cardiaca improvvisa ed un altro ipocinetico con sviluppo di scompenso rapidamente progressivo. È stato studiato anche un unico nucleo familiare caratterizzato dalla presenza di ACM, DCM, disfunzione sistolica del ventricolo sinistro senza dilatazione ventricolare sinistra, disturbi di conduzione ed aritmie, causati da un'unica mutazione del gene *LMNA*. Questo sottolinea l'estrema eterogeneità fenotipica delle varianti del gene *LMNA*, ipotizzando la presenza di un fenotipo condiviso tra le cardiolaminopatie e la ACM (27).

## **1.6.2 Aritmie**

Caratteristico è il comune riscontro che le cardiolaminopatie si manifestano spesso come aritmie (119). Le bradiaritmie e le tachiaritmie sopraventricolari spesso anticipano di decenni lo sviluppo della cardiomiopatia dilatativa (36,112). Per questo motivo, lo screening genetico dovrebbe essere preso in considerazione nei giovani pazienti che presentano nuovi AVB o aritmie atriali atipiche, anche in assenza di disfunzione ventricolare sinistra. I meccanismi fisiopatologici che sottendono al fenotipo aritmico non sono ancora ben chiariti.

### **1.6.2.1 Disturbi di conduzione**

L'elemento tipico delle cardiolaminopatie è la presenza di disturbi di conduzione progressivi, che frequentemente precedono l'insorgenza della disfunzione ventricolare e possono associarsi a tachiaritmie atriali o ventricolari (120). Frequente è l'iniziale coinvolgimento del nodo del seno e/o del nodo atrioventricolare, che può manifestarsi con: bradicardia sinusale, qualsiasi grado di blocco atrio-ventricolare, sindrome del nodo del seno con arresto sinusale e ritmo di scappamento (120).

Durante la fase iniziale di malattia è comune il riscontro di lievi disturbi di conduzione, quali il BAV di I grado o ritardi di conduzione inter/intra-ventricolari, con o senza segni di cardiopatia strutturale (121). Con l'avanzare dell'età tipicamente insorgono BAV di II o III grado, con aumento del rischio di morte improvvisa (122). Si stima infatti che il 44% dei pazienti con mutazione del gene *LMNA* necessiterà di impianto di pacemaker a causa di bradiaritmie dopo i 30 anni. Tuttavia risulta elevata anche la contestuale presenza di tachiaritmie, responsabili di oltre il 50% delle morti cardiache improvvise in pazienti con pacemaker (112).

Alcuni studi mostrano che la degenerazione fibrosclerotica del nodo atrioventricolare, del nodo senoatriale e della parete ventricolare, frequentemente riscontrata, sia il substrato istopatologico dei disturbi di conduzione osservati (123).

Le associazioni tra la gravità dei disturbi di conduzione ed il tipo di variante del gene *LMNA* sono scarse. Tuttavia, è stata evidenziata un'associazione tra la presenza di mutazioni di tipo non missenso e BAV e tra le varianti missenso e il blocco di branca sinistra (23).

### **1.6.2.2 Aritmie ventricolari e morte cardiaca improvvisa**

Le aritmie ventricolari, come le extrasistoli ventricolari, la tachicardia ventricolare e la fibrillazione ventricolare, sono tipiche manifestazioni delle cardiolaminopatie e la loro incidenza risulta superiore al 50% (112,114). In particolare, le tachicardie ventricolari non sostenute si riscontrano nel 20% dei pazienti, inclusi i familiari asintomatici, sottolineando l'importanza dello screening genetico dei familiari.

Le aritmie ventricolari maligne, quali la tachicardia ventricolare sostenuta e la fibrillazione ventricolare, rappresentano ad oggi le principali cause di morte cardiaca improvvisa (SCD) nei pazienti con varianti del gene *LMNA*, in cui il tasso annuale di SCD risulta essere pari al 5-10% (109,124). La morte cardiaca improvvisa è quattro volte più frequente rispetto a quella dovuta allo scompenso e nel 50% dei casi si verifica prima della comparsa dei sintomi da cardiopatia strutturale (6).

La morte cardiaca improvvisa può essere la prima manifestazione della malattia o può verificarsi durante il suo decorso. È raro che le aritmie fatali siano presenti all'esordio, in quanto generalmente sono precedute da aritmie sopraventricolari, disturbi di conduzione o da una seppur lieve cardiopatia strutturale (55). Sebbene nella maggior parte dei casi le aritmie ventricolari non vengano rilevate alle prime visite, è molto probabile che insorgano nel follow up (125). Infatti, l'incidenza cumulativa di tachiaritmie ventricolari sostenute è stimata del 34% a 7 anni e tra i pazienti senza storia di tachiaritmie ventricolari l'incidenza è del 22% durante un follow-up di 7 anni (51). Inoltre, più di un terzo dei pazienti con aritmie ventricolari sostenute ha frazione d'eiezione preservata (>56%) e non rispetta i convenzionali criteri per l'impianto di ICD (55). In assenza di ICD, l'incidenza di aritmie ventricolari maligne e morte improvvisa è stimata dal 7-30%. Le attivazioni appropriate dell'ICD si verificano nel 50% dei pazienti con un ICD in prevenzione

primaria della morte cardiaca improvvisa, con un tasso di interventi appropriati dal 3% al 7% l'anno. Tale valore risulta pari o più alto di quello dei pazienti con ICD in prevenzione primaria per DCM non ischemica con severa disfunzione sistolica, scompenso sintomatico, ACM, cardiomiopatia ipertrofica, cardiopatia ischemica ad alto rischio. Gli interventi inappropriati dell'ICD sono rari e marcatamente inferiori a quelli che si verificano in pazienti con altre cardiopatie (51,54).

### **1.6.2.3 Aritmie sopraventricolari e atriopatia *LMNA*-correlata**

Le aritmie sopraventricolari, in particolare la fibrillazione atriale ed il flutter, sono comuni e possono precedere lo sviluppo della disfunzione sistolica del ventricolo sinistro di decenni, a differenza della fibrillazione atriale associata alla DCM non *LMNA*-correlata (112).

La fibrillazione atriale si riscontra circa nel 60% dei pazienti con cardiolaminopatia, tipicamente con insorgenza in giovane età (12–20 anni), e può rappresentare la prima manifestazione della malattia (126). Presenta maggiore incidenza ed insorgenza ad età inferiore nel sesso maschile. Nei pazienti con mutazione del gene *LMNA* e DCM la prevalenza di FA risulta superiore al 90% (127). Nel 45% dei casi si osserva una progressione da FA parossistica a persistente o permanente (51). Non sono disponibili dati specifici sul rapporto tra fibrillazione atriale asintomatica e sintomatica nelle cardiolaminopatie, ma la frequente associazione con alterazioni della conduzione atrioventricolare, che limitano l'instaurarsi di ritmi ventricolari rapidi, rende la probabilità di fibrillazione atriale asintomatica più alta rispetto alla popolazione generale (108).

L'evoluzione dei processi patologici a livello atriale è progressiva e in uno studio anatomopatologico (128) su tre cuori è stata osservata una marcata perdita di miocardio atriale, con evidenze di sostituzione con tessuto fibroso-adiposo. Il notevole deterioramento delle pareti atriali si adatta ai recenti concetti di cardiomiopatia atriale, corrispondente a qualsiasi complesso di cambiamenti strutturali, architettonici, contrattili o elettrofisiologici che interessano gli atri con il potenziale di produrre manifestazioni clinicamente rilevanti (129). Nelle cardiolaminopatie l'estensione e la progressione del deterioramento dell'atrio sono alla base della progressione delle aritmie cliniche, con fibrillazione atriale e flutter, che richiedono una certa quantità di tessuto atriale eccitabile, tipicamente seguiti nel tempo da paralisi atriale, espressione di una perdita estesa di tessuto vitale. Le

implicazioni cliniche della progressione patologica a livello atriale sono che le procedure di ablazione con catetere (mirate a mantenere il ritmo sinusale nei pazienti che presentano fibrillazione atriale), così come le cardioversioni elettriche ripetute hanno scarsa possibilità di successo nel medio e lungo termine. Inoltre, la stimolazione con pacemaker bicamerale può fallire a causa dello sviluppo progressivo di arresto atriale e ineccitabilità atriale mediante stimoli elettrici, anche se erogati a un'elevata potenza (108,130).

#### **1.6.2.3.1 Rischio tromboembolico**

La presenza di varianti del gene *LMNA* è associata indipendentemente ad un aumentato rischio di complicanze tromboemboliche sia sul versante arterioso che venoso. In questi pazienti l'incidenza di ictus cardioembolico, spesso invalidante, raggiunge il 33–36% (131).

La DCM di per sé si associa ad un aumento del rischio tromboembolico, a causa della dilatazione ventricolare, della ridotta frazione d'eiezione ventricolare sinistra e delle tachiaritmie atriali. Tuttavia, la prevalenza delle complicanze tromboemboliche nei pazienti con cardiomiopatie risulta superiore a quella dei pazienti con DCM idiopatica (131). Inoltre, le varianti del gene *LMNA* si associano ad aumentato rischio di complicanze tromboemboliche, anche in caso di score CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc pari a zero ed indipendentemente dalla presenza di fattori di rischio, come le tachiaritmie atriali, la frazione d'eiezione ventricolare sinistra e l'impianto di device (36).

Nei pazienti con cardiomiopatie è stato identificato uno stato protrombotico, in quanto sono state riscontrate una maggiore generazione di trombina ed un'alterata funzione piastrinica, con ridotto numero di piastrine e maggior volume piastrinico medio (MPV). In particolare, l'aumento del MPV è un predittore indipendente di stroke ischemico e malattia cardiovascolare, in quanto piastrine di dimensioni maggiori sono più attive dal punto di vista metabolico ed enzimatico (131). Una possibile ipotesi per la presenza di tale stato protrombotico è la diretta influenza della lamina A/C alterata sulle piastrine. Infatti, la mutazione della lamina determina una maggiore instabilità dell'actina, che a sua volta può influenzare la produzione delle piastrine a partire dai megacariociti, con conseguente produzione di piastrine difettose. Inoltre, è possibile che la lamina A/C mutata, alteri le cellule endoteliali e muscolari lisce della parete vasale (131). Anche altri fattori, come l'uso

di pacemaker VVI e la frequente presenza di non compattazione del ventricolo sinistro, possono aumentare il rischio di tromboembolico in pazienti con varianti del gene *LMNA* (**Figura 7**) (108).

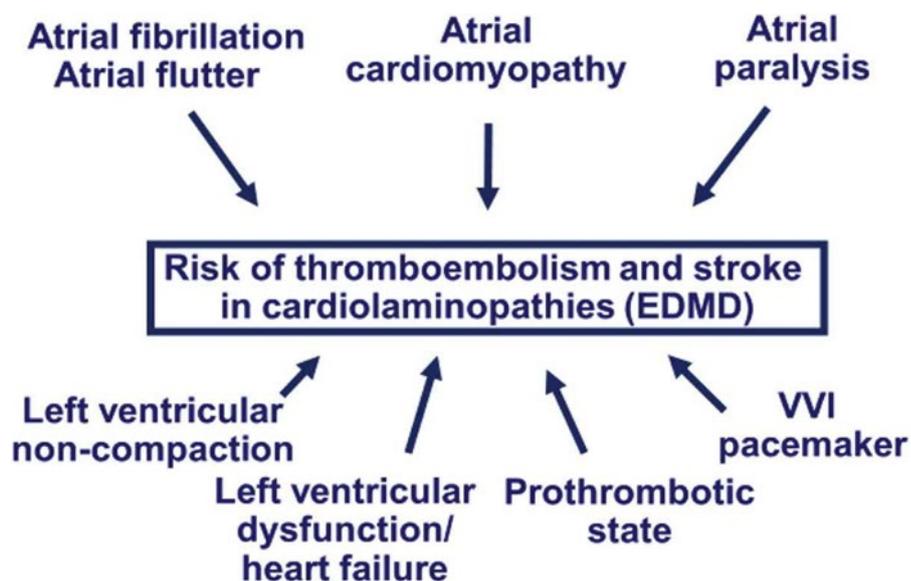


Figura 7 Fattori che influenzano il rischio di tromboembolismo e stroke nei pazienti con cardiomiopatie. Legenda: EDMD = distrofia muscolare di Emery-Dreifuss (108).

## 1.7 DIAGNOSI

La presenza di varianti del gene *LMNA* dovrebbe essere sospettata in caso di:

- cardiomiopatia dilatativa (DCM), soprattutto se associata ad un disturbo di conduzione e/o aritmie sopraventricolari e ventricolari. Circa il 33% dei pazienti con AVB e cardiomiopatia dilatativa presenta una cardiomiopatia (19). Per questo motivo, è importante lo screening delle mutazioni del gene *LMNA* nei giovani pazienti con DCM idiopatica, specialmente se associata ad aritmie atriali e/o AVB;
- DCM preceduta da aritmia sopraventricolare o ventricolare, indipendentemente dal contesto familiare e soprattutto se ad insorgenza in giovane età;
- DCM ed alterazioni muscolo-scheletriche, quali debolezza/astenia muscolare, contratture tendinee, aumentati livelli di creatin chinasi.

Tuttavia, date le iniziali manifestazioni aritmiche in cuori strutturalmente sani, la bassa prevalenza nella popolazione generale e l'esordio in età adulta, le cardiomiopatie rappresentano una sfida diagnostica.

Le linee guida ESC 2023 (109) nella valutazione dei pazienti con sospetta cardiomiopatia raccomandano di adottare un approccio multiparametrico ed “orientato alle cardiomiopatie”, al fine di stabilire e caratterizzare la presenza di un fenotipo e identificarne l’eziologia.

### **1.7.1 Anamnesi familiare ed esame obiettivo**

Data la prevalente trasmissione autosomica dominante delle varianti del gene *LMNA*, la ricostruzione dell’albero genealogico di tre-quattro generazioni consente di individuare altri membri della famiglia potenzialmente a rischio di sviluppare la malattia. Nell’anamnesi familiare le caratteristiche specifiche da considerare comprendono: storia familiare di DCM associata a disturbi di conduzione o FA, ictus giovanile, problematiche muscolo-scheletriche, eventi di morte prematura, scompenso cardiaco, trapianto cardiaco, l’impianto di pacemaker o defibrillatore (109).

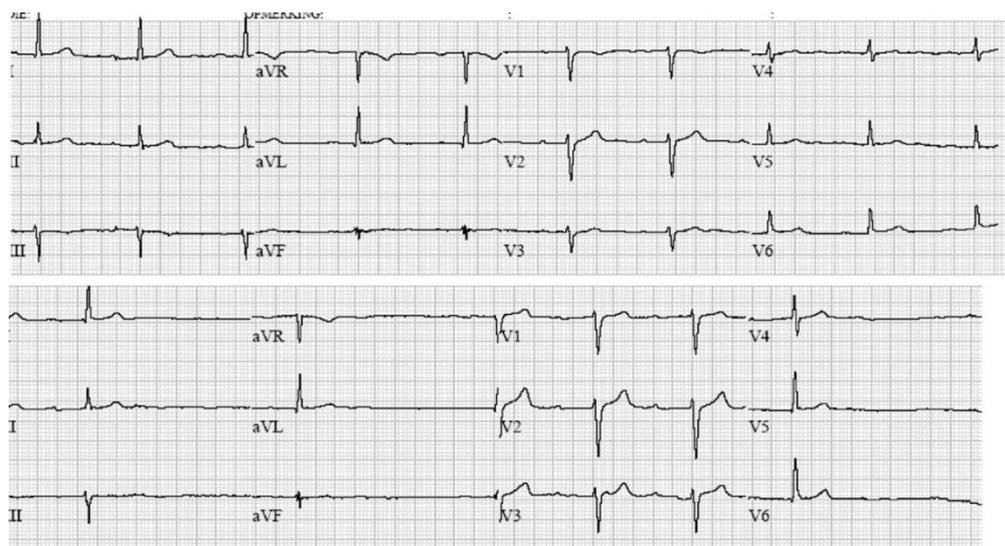
I pazienti con cardiolaminopatia possono essere asintomatici o presentare sintomi riconducibili allo scompenso cardiaco o alle aritmie, come ad esempio dispnea, dolore toracico, palpitazioni, sincope o pre-sincope (108).

### **1.7.2 Elettrocardiogramma**

Le anomalie nella generazione e trasmissione degli impulsi sono tra i primi segni di rimodellamento cardiaco nelle cardiomiopatie e si manifestano con alterazioni elettrocardiografiche. Infatti, l’ECG è spesso il primo esame a far sospettare una cardiolaminopatia, in quanto permette di identificare le prime manifestazioni della malattia, come ad esempio il BAV di I grado o ritardi di conduzione inter/intraventricolari. In un’ampia coorte di pazienti è stata evidenziato che le alterazioni elettrocardiografiche precedono in media di sette anni l’insorgenza della disfunzione ventricolare (120). Frequentemente nelle cardiopatie strutturali l’ECG mostra alterazioni diffuse come: depressione del segmento ST, ipertrofia ventricolare sinistra, QRS ampio, elevate pressioni di riempimento. Pertanto, può risultare aspecifico ed in una minoranza di casi anche normale (15,127).

Il tracciato elettrocardiografico tipico di un paziente con cardiolaminopatia mostra la presenza di onde P di ridotta ampiezza, prolungamento dell’intervallo PR e QRS stretto, unitamente a disturbi di conduzione di vario grado e/o aritmie sopraventricolari o ventricolari (**Figura 8**) (112). In particolare, il prolungamento

dell'intervallo PR è un predittore indipendente di aritmie ventricolari ed è correlato ad una riduzione della funzione settale riscontrata all'ecocardiogramma ed alla fibrosi settale osservata alla RM cardiaca. Ciò conferma una stretta relazione tra proprietà elettriche, meccaniche e strutturali nei soggetti con varianti di *LMNA*, fornendo spiegazione morfologica per le aritmie e il rallentamento della conduzione atrioventricolare (132).



*Figura 8* Traccianti ECG tipici delle cardiolaminopatie. Nella striscia superiore, ECG di un uomo di 33 anni portatore di mutazione *LMNA*, che mostra tipiche piccole onde P, un complesso QRS stretto e un prolungamento dell'intervallo PR (270 millisecondi). Il paziente era asintomatico e la funzione del ventricolo sinistro era normale all'ecocardiografia. Tre anni dopo, i disturbi della conduzione AV erano progrediti a blocco AV di secondo grado (striscia inferiore). La registrazione Holter ha mostrato tachicardie ventricolari non sostenute (36).

Recentemente è stato proposto un nuovo parametro elettrocardiografico facilmente valutabile e specifico per le cardiolaminopatie: il rimodellamento settale (septal remodelling) (**Figura 9**) (125). Il rimodellamento settale è definito dalla presenza in V1-V3 di uno tra:

- a) onde Q patologiche in  $\geq 2$  derivazioni parallele
- b) frammentazione settale definita come frammentazione del QRS in  $\geq 2$  derivazioni settali (V1-V3)
- c) scarsa progressione dell'onda R (onda R  $< 3$  mm) nelle derivazioni V1-V3 accompagnata da frammentazione del complesso QRS o ampiezze delle

onde R distribuite in modo irregolare, ad esempio, con  $RV2 > RV3$  o  $RV1 > RV2$ .

I segni di rimodellamento settale sono risultati presenti nell'81% dei portatori di mutazioni *LMNA*, nel 21% dei controlli con DCM e in nessuno dei controlli sani, confermando un'elevata sensibilità e specificità nel distinguere i portatori di mutazioni *LMNA* dai pazienti con DCM e dai controlli sani. Il septal remodelling riflette un processo patologico localizzato tipico delle cardiolaminopatie e concorda con il riscontro alla RM di una localizzazione preferenziale della fibrosi a livello del setto basale o medio e della parete ventricolare basale sinistra. Tuttavia, è importante sottolineare che anche altri processi patologici regionali, come un infarto miocardico o una miocardite, determinanti necrosi o fibrosi a livello settale, possono causare alterazioni elettrocardiografiche simili.

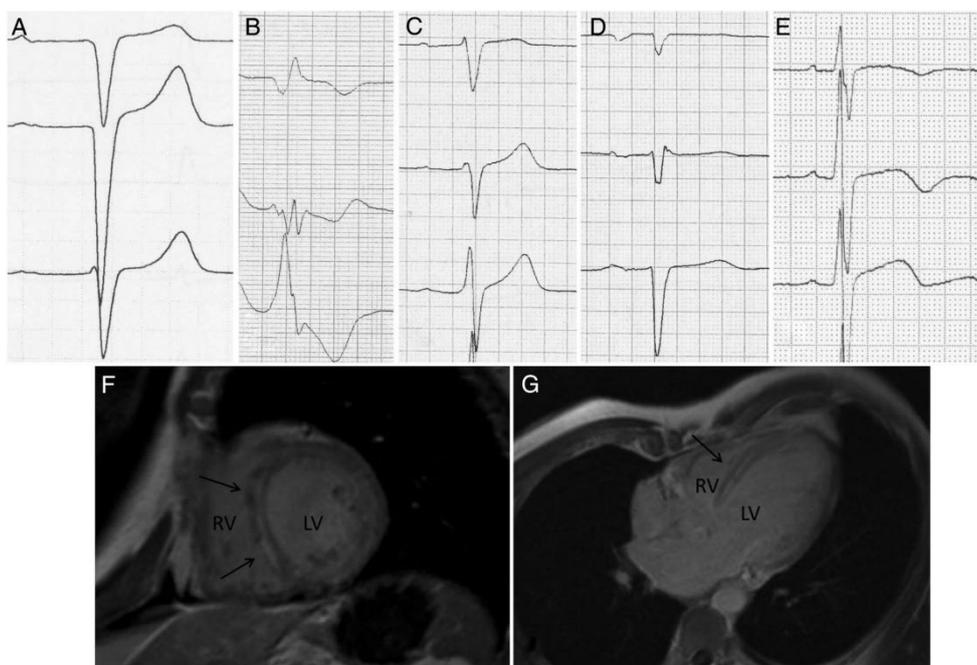


Figura 9 Esempi di ECG che presentano rimodellamento settale:

(A) Onde Q in V1-V2

(B) Largo QRS con frammentazione in V2-V3 e un'onda Q in V1

(C)  $RV1 > RV2$  con QRS frammentato in V2

(D) Scarsa progressione dell'onda R con frammentazione del QRS in V2

(E)  $RV2 > RV3$  con QRS frammentato in V1

(F e G) Immagine RMC di un portatore di mutazione *LMNA*. Le frecce indicano le aree che mostrano un enhancement tardivo con gadolinio a livello settale.

RMC, risonanza magnetica cardiaca; LV, ventricolo sinistro; RV, ventricolo destro (125)

### 1.7.3 ECG dinamico secondo Holter

L'ECG può non rilevare tachi o bradiaritmie parossistiche, per le quali sarà necessaria l'esecuzione di ECG dinamico secondo Holter delle 24h o l'impianto di un event o loop recorder. Inoltre, l'ECG Holter può essere utile ad identificare BAV di II o III grado, tachiaritmie sopraventricolari, extrasistoli ventricolari, tachicardia sopraventricolare non sostenuta ed aritmie ventricolari (51,55).

### 1.7.4 Ecocardiogramma transtoracico

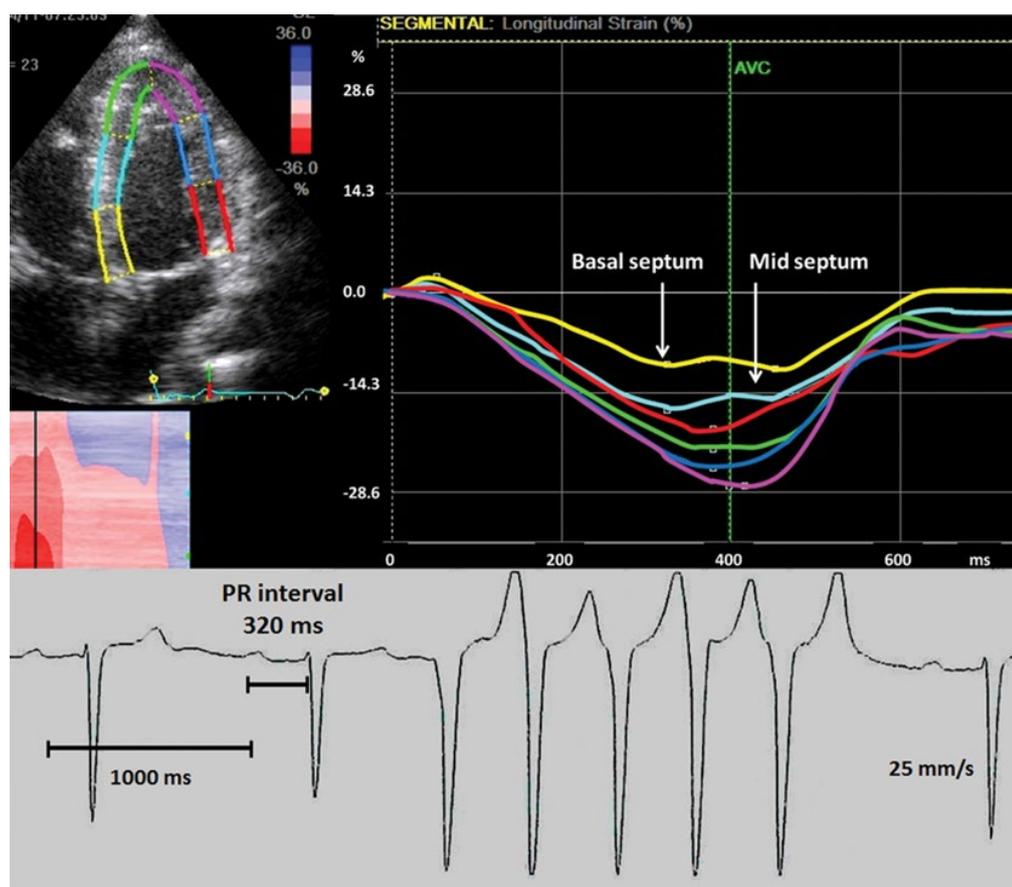
La natura non invasiva e l'ampia disponibilità dell'ecocardiografia rendono questa metodica il principale strumento di imaging, dalla diagnosi iniziale al follow-up delle cardiomiopatie, tra cui quelle correlate al gene *LMNA*. L'ecocardiografia transtoracica (TTE) fornisce importanti informazioni sull'anatomia e sulla funzione globale e regionale ventricolare, nonché sulla funzione valvolare, sulla geometria e funzione atriale e sulla presenza di ostruzione dinamica, ipertensione polmonare o versamento pericardico (109).

Nelle cardiolaminopatie la disfunzione diastolica si verifica indipendentemente dalla disfunzione sistolica, e correla con la dilatazione atriale sinistra e la fibrosi miocardica rilevata dalla risonanza magnetica (133).

Le tecniche ecocardiografiche avanzate, quali il Doppler tissutale ed lo studio della deformazione miocardica con tecnica speckle-tracking, consentono di identificare precocemente la presenza di disfunzione miocardica subclinica e sono state recentemente proposte per identificare i segni precoci di malattia nelle cardiolaminopatie, in cui spesso le dimensioni e la funzione ventricolare sinistra sono preservate (134). Lo strain valutato tramite ecocardiogramma risulta superiore alla frazione d'eiezione nell'identificare sottili e regionali disfunzioni miocardiche. Inoltre, la cinetica miocardica esaminata con lo strain ecocardiografico potrebbe essere un marker sensibile di disfunzione elettrica e potrebbe quindi fornire informazioni per collegare la disfunzione meccanica a quella elettrica (132). In particolare, lo strain ecocardiografico sembra essere uno strumento accurato per identificare la ridotta funzione settale, tipica dei pazienti con mutazione del gene *LMNA* e sede di fibrosi coinvolta nella genesi delle aritmie (**Figura 10**) (132). Inoltre, la dispersione meccanica valutata tramite strain risulta aumentata nei pazienti con NSVT e VT, indipendentemente dalla frazione di eiezione e dalla

deformazione longitudinale globale, e può essere un indicatore precoce di aritmie ventricolari (134).

Infine, a conferma dell'interazione elettromeccanica tipica dei soggetti con cardiolaminopatia, il blocco della conduzione atrioventricolare è stato associato alla ridotta funzione sistolica e diastolica del miocardio settale. La funzione settale si riduce precocemente, a differenza della funzione delle altre parti del ventricolo sinistro, che invece risulta preservata (132).



*Figura 10 L'interazione elettro-meccanica in un paziente con mutazione della lamina A/C. Il pannello superiore mostra le tracce della deformazione longitudinale miocardica ecocardiografica (longitudinal strain) nella proiezione apicale a quattro camere del ventricolo sinistro. I colori delle tracce corrispondono ai colori nei segmenti ventricolari. Le frecce bianche indicano una ridotta funzione sistolica nei segmenti basale e medio-inferosettale. Il pannello inferiore del paziente mostra un ECG con un intervallo PR prolungato di 320 ms e tachicardia ventricolare non sostenuta (132).*

Nei pazienti con cardiolaminopatia le dimensioni dell'atrio sinistro raggiungono valori patologici precocemente in età giovanile e non è chiaro se l'alta prevalenza di fibrillazione atriale spieghi l'aumento delle dimensioni atriali o viceversa (126,130).

La caratterizzazione ecocardiografica delle cardiolaminopatie rivela una miopatia atriale intrinseca precoce, evidenziata da una riduzione della tensione contrattile (strain) dell'atrio, che precede l'ingrandimento atriale e l'insufficienza ventricolare sinistra e predice l'insorgenza della fibrillazione atriale (**Figura 11**) (135). Il motivo per cui gli atri sono interessati prima dei ventricoli è ignoto e potrebbe essere spiegato dal differente spessore parietale. Infatti, l'atrio data la sua parete sottile, risulta più sensibile alle alterazioni della meccanotrasduzione causate dalla variante del gene *LMNA*, tale meccanismo è stato proposto anche nella ACM (136). Poiché si ritiene che la tensione contrattile sia indipendente dalle condizioni di carico, è probabile che essa rifletta un'ipocinesia miocardica intrinseca, indipendentemente dal sovraccarico di volume. Infatti, la gravità della disfunzione contrattile dell'atrio osservato nella cardiomiopatia *LMNA* è maggiore rispetto ai pazienti con cardiomiopatia da *TTNtv* di pari età, sesso e con funzione sistolica nei limiti (135). Inoltre, non è stata riscontrata alcuna correlazione tra la tensione contrattile atriale e la frazione d'eiezione ventricolare sinistra; quindi, la miopatia atriale è indipendente dalle condizioni di carico e dallo stadio dell'insufficienza ventricolare (135).

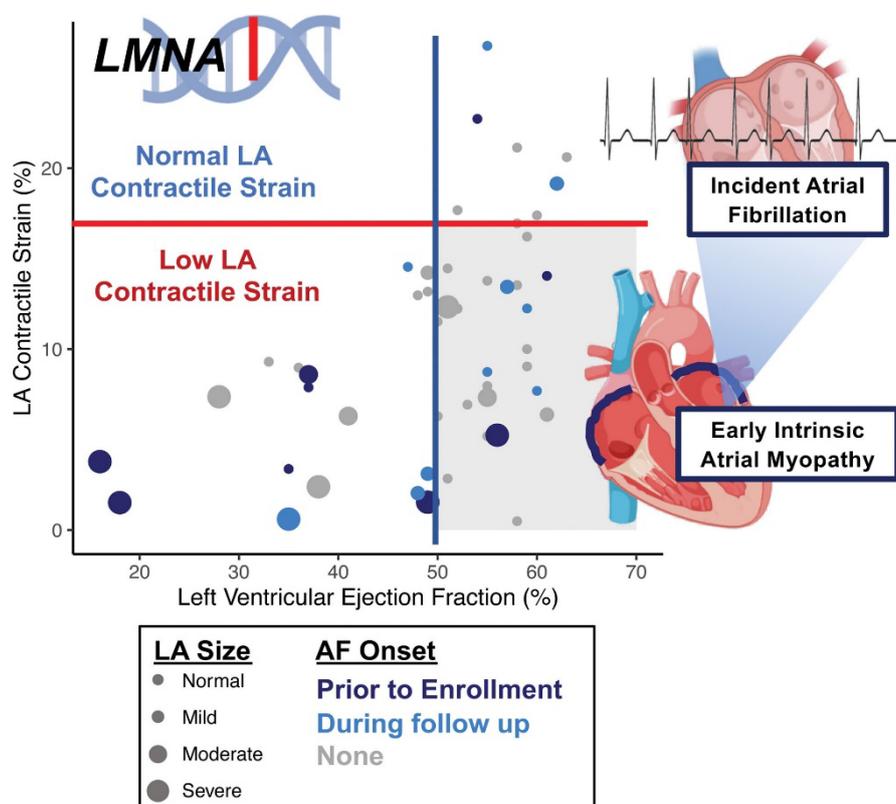


Figura 11 Atriopatia *LMNA*-correlata. La riduzione della tensione contrattile dell'atrio sinistro (LA) si verifica nei pazienti con varianti P/LP di *LMNA* con frazione di eiezione del ventricolo sinistro (FEVS)

$\geq 50\%$ , indipendentemente dalle dimensioni atriali, e preannuncia un rischio più elevato di fibrillazione atriale incidente (AF). La maggior parte dei pazienti con varianti P/LP di LMNA con FEVS  $\geq 50\%$  ha mostrato una tensione contrattile atriale compromessa ( $< 17\%$ , quadrante inferiore destro, evidenziato con rettangolo grigio chiaro) (135).

### 1.7.5 Risonanza magnetica cardiaca

La risonanza magnetica cardiaca (RMC), metodica non invasiva e indipendente dalla finestra acustica, consente la caratterizzazione tissutale del miocardio, valutando la presenza di edema miocardico e di late gadolinium enhancement (LGE). La valutazione iniziale dovrebbe includere di routine sequenze cine, T2-pesate, con mappaggio T1 pre e post-mezzo di contrasto e late gadolinium enhancement (LGE). Quest'ultimo permette di determinare la presenza e l'estensione della fibrosi, nonché la sua distribuzione. Tipicamente nei pazienti con mutazione del gene *LMNA*, LGE presenta distribuzione non coronarica a livello medio-parietale, con pattern lineare (**Figura 12**) (109). Risulta inferiore al 50% dell'area di ciascun segmento coinvolto ed è localizzato prevalentemente nel setto basale e medio del ventricolo sinistro, con un pattern patchy o a mid-wall (113).

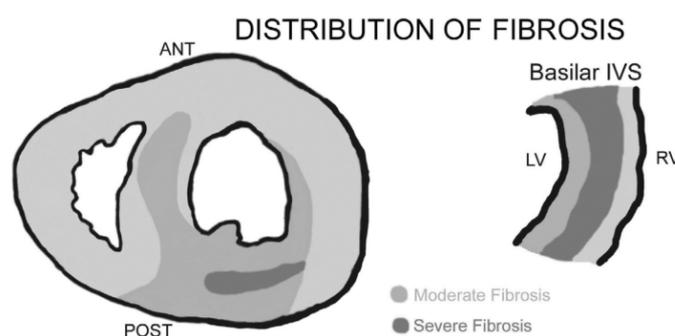


Figura 12 Distribuzione della fibrosi tipica dei pazienti con mutazione del gene *LMNA*

La fibrosi è comune e precoce, generalmente precede la disfunzione meccanica, avvalorando l'ipotesi che possa trattarsi di fibrosi primaria, diretta conseguenza della variante del gene *LMNA* (107). La fibrosi sia alla RMC che all'esame istopatologico si rileva frequentemente a livello settale, in prossimità del tessuto di conduzione e rappresenta il substrato patologico per i disturbi di conduzione e le aritmie, tipici dei pazienti con cardiolaminopatia (137). Inoltre, la localizzazione della fibrosi a livello medio-parietale fornisce il primo possibile collegamento in vivo tra il substrato patologico a livello miocardico e la disfunzione diastolica e

potrebbe essere responsabile anche del successivo sviluppo di disfunzione sistolica (133).

La presenza, la distribuzione e l'estensione dell'LGE hanno un valore prognostico sia per le aritmie che per la severità dello scompenso cardiaco, infatti una diffusione del LGE <7% è un marker di buona prognosi (138). Il riscontro di LGE alla RMC baseline si associa ad una ridotta frazione d'eiezione; invece, la sua assenza correla con un maggior tasso di rimodellamento inverso del ventricolo sinistro (LVRR), indipendentemente dalla FE e dal volume ventricolare sinistro. Inoltre, quando la frazione di eiezione ventricolare sinistra di base è inferiore al 35%, l'assenza di LGE si associa a una maggiore probabilità di superare la soglia del 35% di LVEF per l'impianto di defibrillatore (139).

La presenza di LGE è fortemente associata all'insorgenza di aritmie ventricolari maligne; invece, la sua assenza permette di escludere MVA ad un follow-up medio di 10 anni. Inoltre, il LGE correla positivamente con la malattia del sistema di conduzione, in particolare con il blocco atrioventricolare di primo grado con grande sensibilità. Infatti, l'insorgenza di anomalie di conduzione correla significativamente con la presenza di LGE nel setto ventricolare sinistro, anche con registrazione ECG normale (137,138).

Tuttavia, poiché la fibrosi viene rilevata più frequentemente nei pazienti che già presentano le prime manifestazioni della malattia, le nuove tecnologie RMC sono mirate ad identificare la fibrosi miocardica interstiziale, la quale potrebbe rappresentare un segno subclinico, che precede le anomalie strutturali, funzionali ed elettriche (107). Ad esempio, la tecnica di T1 mapping rileva la fibrosi interstiziale, confrontando la frazione di volume extracellulare/extravascolare del miocardio prima e dopo il contrasto, con risultati preliminari significativi nelle DCM familiari (107). Inoltre, il mappaggio elettroanatomico nei pazienti affetti da aritmie ventricolari ha mostrato la presenza di aree a bassa tensione, espressione elettrica della fibrosi, nelle zone d'origine delle TV clinicamente manifeste. Infatti, nell'82% dei pazienti la cicatrice è stata trovata nella parte basale del ventricolo sinistro, soprattutto a livello del setto, della parete inferiore basale e della continuità mitro-aortica (106).

### 1.7.6 Esami ematochimici

Attualmente non sono disponibili biomarcatori specifici per le cardiolaminopatie e non è chiaro se gli esami ematochimici possano aiutare nella diagnosi e nella stratificazione del rischio (81).

I livelli di creatin chinasi sierici (CPK) possono rilevare una miopatia scheletrica subclinica, aumentando la probabilità di mutazione del gene *LMNA* e giustificando quindi il test genetico in caso di DCM sporadica (109). Tuttavia, un livello normale di CPK non esclude la diagnosi, in quanto risulta normale in 2/3 dei casi. Aumentati valori di creatin chinasi sono riscontrati maggiormente nei soggetti con mutazione di tipo non missenso (15).

Le troponine T ed I possono essere utilizzate come biomarcatori di danno miocardico acuto, come generalmente dimostrato nelle DCM non ischemiche e nei pazienti con scompenso cardiaco, ma mancano di sensibilità e specificità. Recentemente è stato osservato che l'aumento della troponina T ad alta sensibilità (hsTnT) è l'alterazione più precoce, ad esordio tra i 20-30 anni, nei pazienti con cardiolaminopatia e precede l'insorgenza di BAV o aritmie sopraventricolari. Inoltre, elevati livelli di hsTnT (>14ng/L) sono presenti non solo nei probandi, ma anche nei familiari e correlano con un maggior tasso di aritmie ventricolari maligne (140).

L'NT-proBNP correla con la disfunzione ventricolare, quindi risulta elevato in pazienti con dilatazione e/o compromissione del ventricolo sinistro, ma anche in caso di funzione ventricolare sinistra preservata. Livelli di NT-proBNP >150 pg/ml sono predittori indipendenti del rischio di MVA ad otto anni di follow-up (140).

L'aldosterone è ai limiti superiori della norma e la dislipidemia è comune, in quanto è una possibile complicanza metabolica legata alla lipodistrofia (81).

Recentemente sono stati evidenziati elevati valori di specifiche citochine proinfiammatorie, quali il G-CSF ed IL-6. L'effetto del G-CSF a livello cardiaco è ignoto; l'IL-6 diminuisce il calcio intracellulare, inibendo la contrazione, e modula le correnti I<sub>Ca</sub> e I<sub>K</sub> (141).

I pazienti con cardiolaminopatia presentano una riduzione dell'mRNA *LMNA* circolante nel sangue rispetto alla DCM non *LMNA*-correlata ed ai controlli (47). Tale riduzione riflette la ridotta espressione della lamina nella membrana nucleare,

osservata anche nei campioni di biopsia miocardica. L'entità della riduzione dell'espressione dell'mRNA non correla con il tipo di mutazione o con la posizione sul cDNA rispetto al segnale di localizzazione nucleare. Inoltre, è stato osservato che la quantità del trascritto diminuisce nel tempo. Questo biomarcatore trascrittomico a basso costo necessita di ulteriori perfezionamenti, ma potrebbe potenzialmente acquisire un ruolo clinico come test pre-genetico, per monitorare la progressione della malattia e la risposta al trattamento (47).

### 1.7.7 Test genetico

Il test genetico è indispensabile per la diagnosi di certezza delle cardiolaminopatie e permette di: confermare la diagnosi, fornire informazioni sulla prognosi ed orientare la strategia di trattamento (109). I test genetici sono indicati quando il paziente presenta (142):

- DCM e disturbo di conduzione, soprattutto blocco atrioventricolare;
- Storia familiare di morte improvvisa prematura e inattesa (raccomandazione di classe I);
- DCM familiare (raccomandazione di classe IIa);
- Disturbo di conduzione isolato, specialmente quando c'è una storia familiare di CCD (raccomandazione di classe IIb);
- Se dalla valutazione medica del paziente, che ha superato un arresto cardiaco inspiegabile fuori dall'ospedale, emerge il sospetto di una cardiomiopatia genetica (raccomandazione di classe I).

Diversamente da altre forme di DCM, l'analisi genetica nelle cardiolaminopatie può essere più semplice, poiché il gene *LMNA* è relativamente piccolo, la malattia è principalmente autosomica dominante ed eterozigote e le sue mutazioni sono generalmente esoniche (80%) con frequenti sostituzioni di singoli nucleotidi. La diagnosi si basa sull'identificazione di una variante patogena del gene *LMNA*, mediante sequenziamento con metodo Sanger o next generation sequencing (NGS). Si può ricercare solo la mutazione del gene *LMNA*, ad esempio in un probando con alta probabilità pre-test per associazione di DCM e CCD, ma più spesso viene eseguito un pannello multigenico per la DCM (81). Con il sequenziamento di nuova generazione e pannelli più ampi, la sensibilità nel rilevare la mutazione causante la

DCM può raggiungere solo il 50%. Una maggiore sensibilità non è necessaria, poiché gli approcci di sequenziamento a base ampia, come il sequenziamento dell'intero esoma (WES) o del genoma completo, possono generare incertezza per la scoperta di nuove varianti di significato incerto. Infatti, i limiti attuali dell'analisi genetica sono legati proprio alle difficoltà nell'interpretazione delle varianti di significato sconosciuto (VUS). In questi casi, una valutazione attenta della segregazione delle varianti nelle famiglie può aiutare ad attribuire un ruolo patogenetico alla mutazione (143).

Se il sequenziamento degli esoni e delle giunzioni esone-introne non identifica alcuna mutazione, è possibile eseguire l'analisi delle copy number variation (CNV), al fine di escludere riarrangiamenti genomici più ampi non rilevabili tramite sequenziamento degli esoni.

Una volta identificata una variante patogena nel probando, viene eseguito un test genetico a cascata ai parenti, al fine di facilitare l'identificazione preclinica dei soggetti a rischio. Se il test genetico è positivo, i parenti devono essere sottoposti a sorveglianza clinica; invece, se negativo possono essere rassicurati e dimessi dal follow-up (109). Non è stata ancora effettuata una valutazione costi-benefici per determinare se lo screening familiare mediante test genetico e screening clinico sia superiore al solo screening clinico.

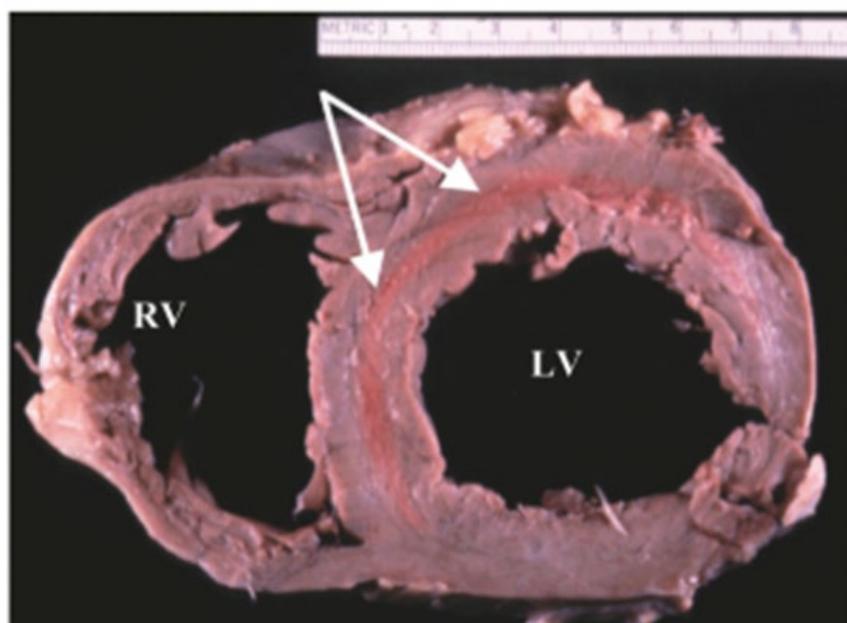
Fondamentale è il counseling genetico, un processo mirato a supportare i pazienti ed i loro familiari nel percorso di comprensione e adattamento alle conseguenze mediche, psicosociali e familiari della malattia. Costituisce l'opportunità per: discutere dei rischi di ereditarietà, educare il paziente sulla necessità di una valutazione clinica, offrire la consulenza pre- e post-test genetico e fornire un supporto psicosociale (109). Il counseling è importante soprattutto nell'ambito delle varianti di significato incerto per spiegare il loro significato al paziente, in quanto nel tempo viene rivalutata la classificazione di patogenicità (143).

### **1.7.8 Biopsia endomiocardica**

La biopsia endomiocardica con analisi istologica standard può mostrare ipertrofia dei cardiomiociti e fibrosi interstiziale con cicatrice da sostituzione focale, non diversamente da altre DCM (19). In alcune mutazioni del gene *LMNA* la fibrosi è particolarmente significativa (104).

Solo la microscopia elettronica convenzionale e la immunomicroscopia elettronica permettono di identificare le modifiche ultrastrutturali della membrana nucleare e la perdita di espressione proteica, tipiche delle cardiolaminopatie. Caratteristici sono: la rottura incompleta o completa della membrana nucleare e la disorganizzazione dei pori nucleari (144). Tuttavia, la biopsia endomiocardica è una tecnica invasiva, per cui il suo utilizzo clinico viene limitato a casi strettamente necessari. La BEM può aiutare nella diagnosi differenziale con altre patologie, tra cui la sarcoidosi, che può presentarsi con disturbi di conduzione e aritmie sopraventricolari.

Degenerazione fibro-adiposa e atrofia sono state osservate nel nodo atrioventricolare dei pazienti affetti, ma ciò è stato osservato solo su cuori espantati, in quanto il sistema di conduzione cardiaco non può essere parte del campionamento di una biopsia diagnostica. Inoltre, l'analisi istologica ha confermato la fibrosi medioparietale del setto basale, corrispondente a quella rilevata dalla RMC, nel 75% dei pazienti deceduti con cardiolaminopatia (**Figura 13**) (123).



*Figura 13* Reperto autoptico di un soggetto con cardiolaminopatia. Le frecce bianche indicano la fibrosi del setto medio (133).

	Findings	Predictors of events	Events	Indication	Calendar minimal frequency
12-leads ECG	Any degree AVB, SSS, LBBB/IVCD	First degree AVB	High degree AVBs	Strong	Twice a year
24/48 h Holter monitoring	SSS, any degree AVB, PVC, NSVT, VT/VF, SVA	NSVT	VT/VF	Strong	Twice a year
Device interrogation (when applicable)	NSVT, VT/VF, SVA	NSVT	VT/VF	Strong	Twice a year
TTE	LV dilatation/dysfunction, RV and LA morphology and function	LVEF < 45–50% Strain	DCM	Strong	Twice a year
Genetic test	Aetiologic definition	Non-missense mutations	VT/VF	Strong	Once in lifetime
CMR	Biventricular morphology and function, LGE	LGE	AVB, VT/VF, DCM/HF	Medium	Once in lifetime
EMB	Fibrosis	Fibrosis	AVB, VT/VF, DCM/HF	Low	No
Electroanatomical mapping	Low-voltage areas	/	VT/VF	Low	No
Electrophysiological study	VT/VF inducibility, conduction intervals	/	AVB, VT/VF	Low	No

*Tabella II Strumenti diagnostici nelle laminopatie cardiache. La tabella mostra i principali strumenti diagnostici nelle cardiolaminopatie, con le conclusioni più comuni, gli eventi principali rilevabili insieme ai loro predittori, l'indicazione successiva secondo i principali studi pubblicati finora e il calendario di follow-up suggerito. Abbreviazioni: AF/Flu = fibrillazione atriale/flutter; AVB = blocco atrioventricolare; CMRI = risonanza magnetica cardiaca; DCM = cardiomiopatia dilatativa; EMB = biopsia endomiocardica; IVCD = difetti di conduzione interventricolare; LA = atrio sinistro; LBBB = blocco di branca sinistra; LGE = aumento tardivo del gadolinio; LV = ventricolo sinistro; LVEF = frazione di eiezione del ventricolo sinistro; NSVT = tachicardia ventricolare non sostenuta; PVC = complesso ventricolare prematuro; RV = ventricolo destro; SSS = sindrome del nodo del seno; VT/VF = tachicardia/fibrillazione ventricolare (15).*

## 1.8 PROGNOSI

A causa della rarità della malattia e del suo fenotipo eterogeneo, al momento non sono disponibili ampi studi prospettici longitudinali sulle cardiolaminopatie. La maggior parte delle evidenze sulla storia naturale della malattia proviene da esperienze in singoli centri o da registri retrospettivi multicentrici (15). Le cardiolaminopatie presentano un'evoluzione aggressiva e rapida, con una storia naturale peggiore rispetto ad altre forme di cardiomiopatia dilatativa non ischemica ed una maggiore incidenza di morte cardiaca improvvisa, tachicardia ventricolare maligna, bradicardia severa ed insufficienza cardiaca terminale (110,111,115). Infatti, all'età di 45 anni il 69% dei portatori di varianti del gene *LMNA* va incontro a morte, trapianto cardiaco o almeno un evento maggiore (ricovero per riacutizzazione dello scompenso cardiaco o scompenso cardiaco avanzato, aritmie ventricolari o evento tromboembolico), rispetto al 25% dei pazienti con DCM familiare senza varianti *LMNA* (6). Pertanto, un test genetico positivo per la presenza di varianti del gene *LMNA* ha cruciali implicazioni cliniche e prognostiche.

Uno dei più grandi studi retrospettivi sulle cardiolaminopatie ha seguito 269 soggetti provenienti da 8 centri europei durante un follow-up medio di 43 mesi,

riportando: un tasso di mortalità del 17%, con il 13% dei pazienti sottoposti a trapianto cardiaco, il 18% che ha sviluppato aritmie ventricolari maligne ed il 40% impiantato con ICD. Nei pazienti con defibrillatore alla visita iniziale il tasso di terapia appropriata durante il follow-up è stato del 13% all'anno se in prevenzione secondaria e del 8% all'anno se in prevenzione primaria (55).

Analogamente, uno studio retrospettivo su 122 individui con varianti patogene di *LMNA* seguiti per 7 anni, ha riportato: una prevalenza del 46-57% di blocco atrioventricolare, 39-63% di aritmie atriali, 16-34% di aritmie ventricolari e una prevalenza del 44-57% di disfunzione sistolica del ventricolo sinistro (51).

### 1.8.1 Stratificazione del rischio

Ad oggi il sesso maschile, la presenza di tachicardia ventricolare non sostenuta, le varianti di tipo non-missenso e la disfunzione ventricolare sinistra con frazione d'eiezione <45% sono considerati predittori del rischio d'insorgenza di aritmie ventricolari maligne (MVA). I soggetti con almeno 2 di tali fattori sono ad alto rischio di MVA e vanno valutati per l'impianto di ICD (55,145).

Wahbi et al hanno elaborato uno score predittivo del rischio a 5 anni di tachiaritmie ventricolari potenzialmente fatali, definite come: morte cardiaca improvvisa, appropriato intervento dell'ICD o altre manifestazioni di tachiaritmie ventricolari emodinamicamente instabili (53). Tale score permette di selezionare i pazienti che beneficiano dell'impianto di ICD in prevenzione primaria e valuta:

- 1) sesso: maschile o femminile;
- 2) presenza di mutazioni di tipo non-missenso: inserzioni, delezioni, mutazioni troncanti o del sito di splicing;
- 3) presenza e grado di blocco atrioventricolare: assente, I grado, alto grado (II-III grado);
- 4) presenza di tachicardia ventricolare non sostenuta: >3 complessi ventricolari consecutivi ad una frequenza  $\geq 120$  bpm al monitoraggio elettrocardiografico delle 24h;
- 5) frazione d'eiezione valutata tramite ecocardiogramma.

Tuttavia, tali fattori di rischio sono oggetto di dibattito (56,146), infatti è stato recentemente dimostrato in una grande coorte di pazienti affetti da DCM che i

portatori di varianti di *LMNA* presentano i tassi più alti di SCD/VT/fibrillazione ventricolare, indipendentemente dalla LVEF. Inoltre, anche il sesso femminile e la presenza di mutazioni di tipo missenso vanno attentamente valutati, in quanto possono anch'essi associarsi a cattiva prognosi (24,56).

Come per le altre cardiomiopatie, anche in caso di mutazione *LMNA* l'attività sportiva agonistica si associa ad un aumento del rischio di morte cardiaca improvvisa (54).

Inoltre, la classe NYHA III e IV è il più forte predittore di eventi cardiaci maggiori, soprattutto se presente alla diagnosi (54).

Il prolungamento dell'intervallo PR è un predittore indipendente di aritmie ventricolari ed ha un'eccellente sensibilità e specificità nel rilevare aritmie ventricolari, indipendentemente dall'uso di  $\beta$ -bloccanti. L'intervallo PR prolungato predice la comparsa sia di tachicardie ventricolari non sostenute che sostenute e quindi potrebbe rappresentare un segno precoce per individuare un aumento del rischio di eventi gravi (132).

Recentemente è stato osservato che anche il tasso di progressione della malattia, valutato mediante elettrocardiogramma ed ecocardiogramma, è un forte predittore di aritmie ventricolari. In particolare, valori di FEV<44%, LVEDVi>77mL/m<sup>2</sup> ed intervallo PR>280 ms sono indicativi di transizione verso un fenotipo più aritmogeno (147).

Infine, la presenza di LGE alla RMC è un predittore significativo di eventi multipli sia di disfunzione meccanica che elettrica (113,133).

Data la presenza di molteplici fattori di rischio è stato proposto che un modello integrato possa essere più appropriato per la stratificazione del rischio nei pazienti con cardiolaminopatia. Infatti, i risultati di ampi studi retrospettivi suggeriscono di adottare un criterio multiparametrico per prevedere la prognosi, in quanto più fattori di rischio possono associarsi nello stesso paziente ed il loro effetto è cumulativo.

### 1.8.2 Storia clinica

Nei pazienti con cardiolaminopatia si osserva un deterioramento cardiaco progressivo e dinamico (**Figura 14**) (6). In giovane età risulta predominante la disfunzione elettrica, seguita dalla diminuzione della funzione sistolica del

ventricolo sinistro (LV) in età avanzata. Tale riduzione si verifica in assenza di dilatazione compensatoria del LV, evidenziando quindi una diversa progressione della disfunzione ventricolare sinistra nella cardiomiopatia *LMNA*-correlata rispetto alla tipica DCM (148). Tale condizione determina una diminuzione più marcata dei volumi sistolici, con conseguente precoce attivazione dei sistemi neuro-ormonali, che stimolano la progressione dell'insufficienza cardiaca; ciò può spiegare il rapido deterioramento osservato nella pratica clinica (21). La dilatazione del LV è rara, ma la sua insorgenza è segno di una prognosi sfavorevole. Con l'avanzare dell'età si osserva anche un deterioramento accelerato della funzione del ventricolo destro ed un aumento della prevalenza di insufficienza tricuspidalica. La progressione della malattia ventricolare destra può essere spiegata da un aumento progressivo del postcarico del RV, dovuto ad elevate pressioni di riempimento del LV e, in fasi più avanzate, ad un sovraccarico di volume cronico del RV per il grave rigurgito tricuspidalico. L'insieme della progressiva disfunzione del LV, senza dilatazione compensatoria, e del RV unitamente al peggioramento dell'insufficienza tricuspidalica, determina bassi volumi sistolici sistemici. Inoltre, i ritardi di conduzione che portano a dissincronia del LV e ad una risposta cronotropa inadeguata, possono ridurre ulteriormente il flusso ematico cardiaco. Questi fattori possono contribuire all'alta incidenza di insufficienza cardiaca terminale nei pazienti con mutazione del gene *LMNA*. La disfunzione del ventricolo destro è stata associata, insieme alla dilatazione del RV e all'insufficienza delle valvole atrioventricolari, ad esiti cardiaci avversi (148).

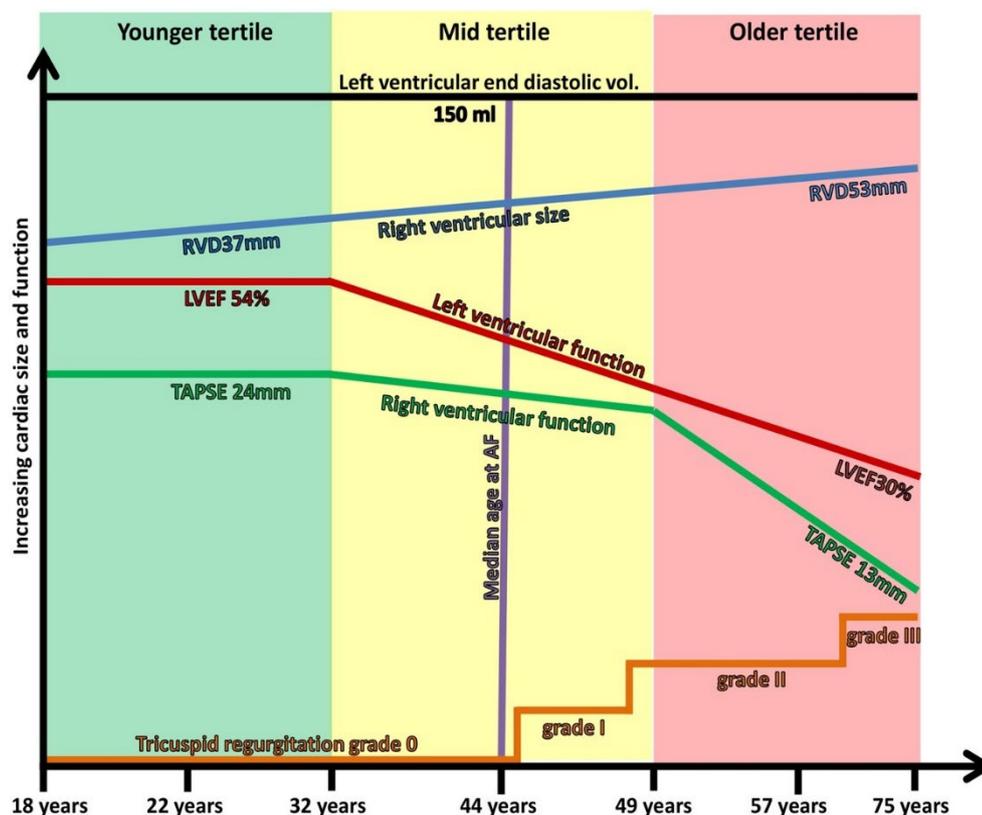


Figura 14 Rappresentazione schematica che mostra la progressione strutturale e funzionale della cardiomiopatia da lamina A/C con l'aumentare dell'età. I tertili di età sono codificati per colore sull'asse x come più giovani (verde), intermedi (giallo) e più anziani (rosso). LVEF: frazione di eiezione del ventricolo sinistro, RVD: dimensione lineare basale del ventricolo destro, TAPSE: escursione sistolica del piano anulare tricuspideale (148).

## 1.9 TERAPIA

Le varianti del gene *LMNA* rappresentano l'unico background genetico nell'ambito della DCM che influenza le scelte terapeutiche (57).

### 1.9.1 Modifiche dello stile di vita

L'attività sportiva agonistica, per il suo effetto sfavorevole sulla funzione cardiaca e sul rischio di aritmie potenzialmente fatali, dovrebbe essere scoraggiata in tutti i portatori di varianti patogene del gene *LMNA*, indipendentemente dallo stadio della malattia (109). L'esercizio fisico si associa ad una peggiore funzione sistolica del ventricolo sinistro e ad una maggiore prevalenza di FA (54). Inoltre, i pazienti che praticano attività fisica presentano una maggiore penetranza ed una ridotta frazione d'eiezione ventricolare sinistra, indipendentemente dall'età e dal sesso. Anche l'attività ludico motoria influenza negativamente la progressione della patologia ed

è stata osservata una relazione dose-risposta lineare tra l'aumento della durata dell'esercizio fisico e la progressione della malattia. L'attività motoria ha noti benefici per la salute e non dovrebbe essere inutilmente limitata, tuttavia, le soglie di esercizio sicure nei pazienti con cardiolaminopatia sono ancora sconosciute (149).

### **1.9.2 Trattamento dello scompenso**

I benefici della terapia medica indicata nelle linee guida per lo scompenso (GDMT) (150,151), non sono confermati nelle cardiolaminopatie, eccetto per alcuni case-reports e uno studio clinico di fase III (PRECARDIA, NCT01583114) interrotto prematuramente (81). Dato il carattere retrospettivo degli studi sulla cardiomiopatia *LMNA*-correlata non è noto se i nuovi agenti, come ARNI o inibitori del cotrasportatore sodio-glucosio-2, abbiano un ruolo nel ritardare la progressione della malattia, il rimodellamento del ventricolo sinistro o gli esiti dello scompenso cardiaco. Inoltre, non è chiaro qual è il momento ottimale per iniziare la GDMT e se esiste una soglia oltre la quale la reversibilità della malattia risulta improbabile (127). Gli esperti concordano per l'utilizzo della GDMT nei pazienti con disfunzione del ventricolo sinistro ed insufficienza cardiaca, ma non è chiaro il ruolo della terapia negli altri stadi della malattia e nei pazienti genotipo positivo e fenotipo negativo. I pazienti con cardiomiopatia *LMNA*-correlata frequentemente si presentano con una FE normale e senza significativa dilatazione del ventricolo sinistro, ma con disturbi di conduzione ed aritmie (127). È ignoto se la terapia medica per lo scompenso cardiaco possa giocare un ruolo nella prevenzione o nel ritardo di ulteriori aritmie in questi pazienti. Inoltre, i soggetti con cardiolaminopatia hanno mostrato una scarsa risposta alla GDMT con ridotto miglioramento della FE e minore rimodellamento inverso del ventricolo sinistro (LVRR) (116,117).

In casi di insufficienza cardiaca progressiva e in peggioramento, possono essere considerate altre opzioni oltre al trattamento farmacologico. Pazienti adeguatamente selezionati possono beneficiare della terapia di resincronizzazione cardiaca, del trapianto cardiaco o dei sistemi di assistenza meccanica al circolo (MCS) (109).

### 1.9.2.1 Terapia di resincronizzazione cardiaca

La terapia di resincronizzazione cardiaca (CRT) può essere applicata nei casi di insufficienza cardiaca con dissincronia elettrica (blocco di branca o largo complesso QRS all'ECG) e migliora la performance sistolica del ventricolo sinistro, la morbilità e la mortalità (152). Nei pazienti con cardiolaminopatia è raccomandato in prima istanza l'impianto un dispositivo CRT-D in previsione di un alto carico di pacing ventricolare destro ( $\geq 50\%$ ) o in caso di FE  $\leq 45\%$  con complessi QRS larghi (127). In un'ampia coorte di pazienti con cardiomiopatia *LMNA*-correlata la risposta alla CRT, definita come miglioramento della frazione di eiezione ventricolare sinistra  $\geq 5\%$ , è del 38% dopo 6 mesi e del 61% nei pazienti con un'indicazione di classe I per la CRT (153). I fattori associati a una risposta alla CRT sono: FE pre-CRT ridotta e un'aumentata percentuale di pacing ventricolare pre-CRT tra i pazienti che hanno eseguito la CRT come modifica di un dispositivo cardiaco impiantabile già presente (CIED) (153). In particolare, nei pazienti con un ICD o pacemaker bicamerale, si raccomanda l'upgrading a un CRT-D quando il carico di pacing ventricolare destro supera il 50% e la FE è diminuita o è inferiore al 45%, nonostante la terapia medica ottimale. L'impatto clinico di una resincronizzazione efficace è significativo con un ritardo medio di 1,3 anni nell'endpoint composito di LVAD, trapianto o morte. I pazienti con cardiomiopatia *LMNA*-correlata con una FE  $\leq 35\%$  sono i più responsivi alla CRT, suggerendo che i pazienti con maggiore rimodellamento ottengono maggior beneficio. (153)

Tuttavia, il tasso di tachicardie ventricolari aumenta dopo la CRT, suggerendo che l'effetto antiaritmico del pacing biventricolare osservato nei pazienti con insufficienza cardiaca non selezionati potrebbe non applicarsi nelle cardiolaminopatie.

### 1.9.2.2 Trapianto cardiaco e dispositivi di assistenza ventricolare sinistra

Dato il decorso particolarmente aggressivo delle cardiolaminopatie, il 20-30% dei pazienti va incontro a trapianto (57). Il trapianto cardiaco ortotopico dovrebbe essere preso in considerazione nei pazienti con sintomi moderato-severi (classe funzionale NYHA III-IV) refrattari alla terapia, che soddisfano i criteri standard di eleggibilità. Nei pazienti con aritmie ventricolari refrattarie non imputabili esclusivamente a riacutizzazione dell'insufficienza cardiaca nel contesto di scompenso cardiaco allo stadio terminale, prima di raccomandare il trapianto

cardiaco deve essere effettuata una valutazione completa di tutte le potenziali opzioni terapeutiche (109). Data le frequenti complicanze aritmiche della *LMNA*-CM, i sistemi di assistenza meccanica al circolo con LVAD o con dispositivi di assistenza biventricolare, sono raramente usati (127).

### **1.9.3 Trattamento delle aritmie**

Ad oggi non ci sono evidenze per la terapia farmacologica antiaritmica ottimale. Nella pratica clinica, i pazienti con cardiolaminopatia vengono spesso trattati con  $\beta$ -bloccanti, data la precoce insorgenza di aritmie. Tuttavia, il loro uso nei disturbi di conduzione dovrebbe essere posticipato fino all'impianto del pacemaker. Infatti, i  $\beta$ -bloccanti possono migliorare i sintomi, la prognosi e ridurre il rischio di aritmie ventricolari; ma c'è il rischio di blocco atrioventricolare di alto grado nei pazienti con CCD senza pacemaker e di aumento della stimolazione ventricolare destra nei pazienti senza un dispositivo di terapia di resincronizzazione cardiaca (81). In generale, data la frequente bradiaritmia tutti i farmaci con effetto cronotropo negativo dovrebbero essere usati con cautela, o eventualmente evitati a meno che non sia presente un pacemaker (127).

Le bradiaritmie sintomatiche e i blocchi atrioventricolari di alto grado asintomatici dovrebbero essere trattati con un pacemaker. Tuttavia, quando è indicato un dispositivo per la stimolazione, si raccomanda l'impianto di un ICD, data l'alta incidenza di VA maligne (154). Infatti, un quarto dei pazienti con pacemaker necessita di un upgrade a defibrillatore precocemente ed il 42% dei pazienti sottoposti a impianto di ICD al momento dell'insorgenza del disturbo di conduzione, ha una TV trattata con successo durante il follow up. In generale, considerando l'alto rischio di bradiaritmie, la soglia per la stimolazione cardiaca attraverso un dispositivo dovrebbe essere bassa, soprattutto in presenza di anomalie della conduzione atrioventricolare o disfunzione del nodo senoatriale (154).

#### **1.9.3.1 Trattamento delle aritmie atriali**

I pazienti con varianti patogene del gene *LMNA* hanno un'elevata prevalenza di fibrillazione atriale (25-49%) ed ictus cardioembolico (8-22%), nonostante bassi punteggi allo score CHA2DS2-VASc (130). Pertanto, nonostante l'assenza di studi controllati, si suggerisce di iniziare la terapia anticoagulante orale con DOAC, in assenza di controindicazioni assolute, in ogni paziente cardiolaminopatia e con:

fibrillazione atriale, altre tachiaritmie atriali (flutter atriale, tachicardia atriale) o paralisi atriale (109).

Per il controllo della frequenza e del ritmo non ci sono indicazioni specifiche per i pazienti con cardiolaminopatia. Per il controllo della frequenza in prima linea è indicata terapia farmacologica con  $\beta$ -bloccanti; invece, per il controllo del ritmo si preferisce l'ablazione transcateretere, specialmente in presenza di disfunzione ventricolare (155).

### 1.9.3.2 Trattamento delle aritmie ventricolari

Secondo le ultime linee guida le mutazioni del gene *LMNA* rientrano tra le mutazioni a maggior rischio aritmico (109). I criteri convenzionali per l'impianto di ICD, con stratificazione del rischio basata su FE e classe NYHA, non possono essere applicati alle cardiolaminopatie. Infatti, fino a un terzo dei portatori di mutazioni del gene *LMNA* che manifesta VA sostenute ha una funzione ventricolare conservata (FE > 50%) e il 56% non soddisfa i criteri convenzionali per l'impianto di ICD, perché ha una FE > 35% al momento della prima VA sostenuta. Pertanto, a differenza di altre DCM, l'impianto di ICD dovrebbe essere preso in considerazione anche prima che la frazione di eiezione scenda al di sotto del 35%, dato l'elevato rischio di aritmia (156).

Il calcolatore *LMNA*-risk VTA (<https://lmna-riskvta.fr/>) consente di stimare il rischio di VA potenzialmente fatali. Nei pazienti con un rischio stimato  $\geq 10\%$  a 5 anni e un fenotipo cardiaco clinicamente manifesto con TVNS, FE < 50% o ritardo di conduzione AV, deve essere preso in considerazione l'impianto di ICD in prevenzione primaria (IIa B). Inoltre, l'impianto di ICD deve essere valutato nei pazienti con CMD/NDLVC con: FE < 50% e  $\geq 2$  fattori di rischio, quali sincope, LGE alla RMC, SMVT inducibile alla PES (IIa C) (157). Tuttavia, le linee guida ESC 2023 (109) raccomandano di basare il processo decisionale sui real world data (RWD), nonché sulle preferenze, principi, circostanze e valori di ciascun paziente. Infatti, in un recente studio, nel quale è stato validato il calcolatore *LMNA*-risk VTA, il rischio aritmico è risultato sovrastimato, quando veniva utilizzato come valore soglia un rischio  $\geq 7\%$  a 5 anni (specificità 26%, statistica C 0.85), nonostante un'elevata sensibilità (146).

Nei pazienti con mutazione *LMNA* i tassi di terapia ICD appropriata sono alti, 42% entro 3 anni e 52% entro 5 anni. I tassi annuali di terapia ICD appropriata sono

stimati del 5,6% e 17,1%, rispettivamente per ICD in prevenzione primaria e secondaria (156,158).

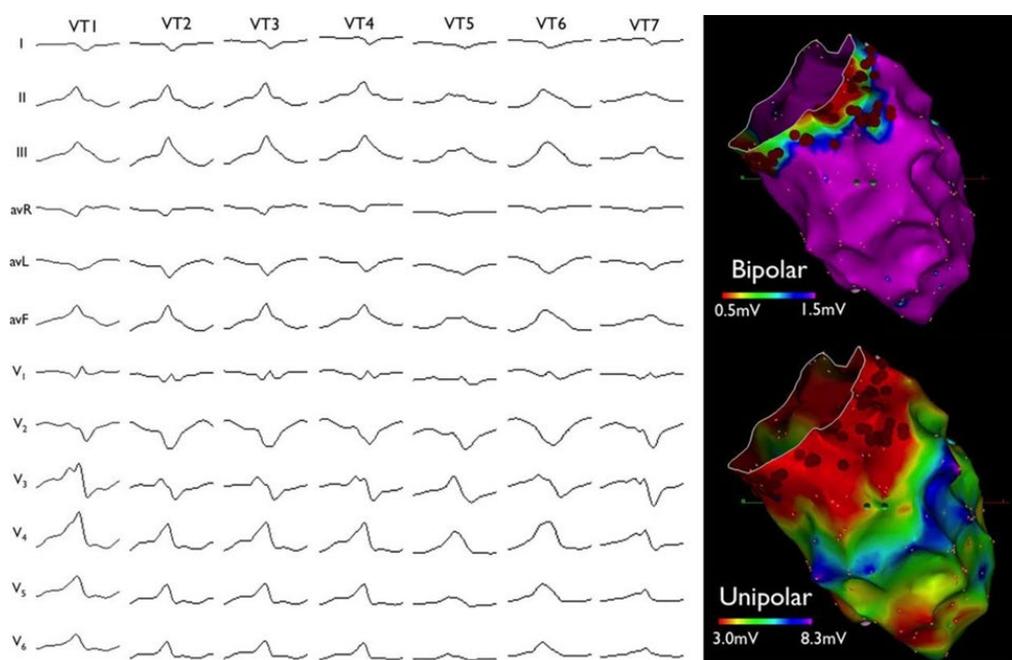
La programmazione del range di trattamento dell'ICD è un equilibrio tra l'evitare scariche inappropriate per SVT ed il trattare la TV. Nelle cardiolaminopatie l'ICD dovrebbe essere programmato per rilevare TV molto più lente, data la frequente presenza BAV (154).

Sebbene la morte improvvisa possa essere prevenuta con l'impianto di ICD, la tachicardia ventricolare (TV) ricorrente e refrattaria nelle cardiolaminopatia rimane una significativa causa di morbilità e mortalità. Infatti, i pazienti con varianti del gene *LMNA* con un dispositivo di prevenzione secondaria sperimentano recidive di TV a un tasso del 28% all'anno, ben al di sopra di quanto osservato nella cardiomiopatia ischemica e nella ARVC (106,159).

Le aritmie ventricolari nei pazienti con cardiolaminopatia rispondono bene alla stimolazione anti-tachicardica (ATP), pertanto dovrebbero essere utilizzati ICD transvenosi piuttosto che sottocutanei e dovrebbero essere riprogrammati ripetutamente, dato l'allungamento del TCL (tachycardia cycle length) nel tempo (159). Ad eccezione delle TV più rapide, l'ATP risulta altamente efficace su tachicardie di varia durata, con significativa riduzione del tasso di TV nel tempo e mantiene la sua efficacia al progredire della malattia. Nei pazienti con TCL tra 250-660 ms, la risposta all'ATP risulta del 95%. La risposta favorevole della TV all'ATP nelle cardiolaminopatie è tipica e maggiore rispetto a quanto osservato in altre malattie. Inoltre, l'ATP migliora la qualità della vita, riducendo la frequenza delle scariche. Il tasso di TV diminuisce significativamente ed è influenzato dal TCL iniziale, ma anche dall'uso di farmaci antiaritmici e dal peggioramento della cardiomiopatia (159).

Nelle cardiolaminopatie l'ablazione transcateretere della tachicardia ventricolare ha spesso esito sfavorevole con alti tassi di recidiva, progressione verso l'insufficienza cardiaca allo stadio terminale ed elevata mortalità. In particolare, durante un follow-up mediano di 7 mesi dopo l'ablazione: il 91% dei pazienti ha  $\geq 1$  recidiva di tachicardia ventricolare, il 44% ha ricevuto o è in attesa di supporto circolatorio meccanico o trapianto per insufficienza cardiaca allo stadio terminale, e il 26% è deceduto. Pertanto, i pazienti con cardiomiopatia *LMNA*-correlata che sviluppano TV refrattarie ai farmaci costituiscono una popolazione ad alto rischio. L'insorgenza

di TV refrattarie ai farmaci potrebbe essere un segno predittivo di insufficienza cardiaca, necessità di trapianto o mortalità (106). Nei pazienti con cardiolaminopatia la combinazione di un substrato della TV prevalentemente intramurale e della presenza di una cicatrice settale basale rende l'ablazione della TV una sfida (**Figura 15**). Le TV sembrano prevalentemente essere legate a fenomeni di rientro a livello delle cicatrici e delle zone circostanti. Nel 72% dei casi la tachicardia ventricolare ha origine dalla parete basale del ventricolo sinistro, soprattutto a livello del setto, dalla parete inferiore basale e dalla continuità mitro-aortica. A causa del substrato intramurale, nonostante procedure multiple, incluse l'ablazione transcoronarica con etanolo o la crioablazione chirurgica, la TV inducibile viene eliminata solo nel 25% dei pazienti e le complicanze procedurali sono significative (25% dei pazienti) (106). L'ablazione permette il controllo delle aritmie ventricolari con una riduzione delle scariche e dell'uso di farmaci antiaritmici; pertanto, potrebbe avere un ruolo palliativo. Ad oggi, l'ablazione può avere un ruolo per il controllo delle VA nei pazienti affetti da storm aritmico o con multipli shock appropriati dell'ICD, nonostante la terapia medica ottimale (15).



*Figura 15 Esempio di cardiolaminopatia con cicatrice basale perivalvolare ventricolare sinistra (LV) e probabile origine della tachicardia ventricolare (VT) intramurale. Sette VT sono risultate inducibili e sono state mappate nella regione della cicatrice a bassa tensione bipolare a livello della regione periaortica, del setto basale del LV e della continuità mitro-aortica (106).*

### 1.9.4 Nuove strategie terapeutiche

Il trattamento delle cardiolaminopatie è un campo emergente con un enorme potenziale e sfide di grande interesse per la ricerca, perché nonostante la terapia convenzionale ottimale, la maggior parte dei pazienti progredisce rapidamente verso un esito infausto. Ad oggi sono stati identificati vari potenziali bersagli terapeutici ed alcuni farmaci sono entrati in fase preclinica e clinica con risultati promettenti, in quanto potrebbero modificare il decorso naturale aggressivo della patologia (Figura 16) (160).

#### Identified signaling pathways & potential therapies

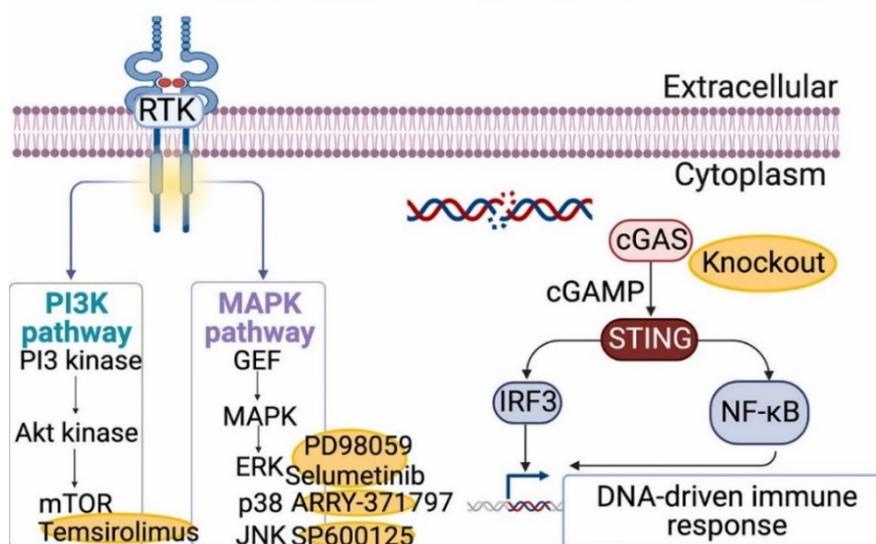


Figura 16 Rappresentazione schematica dei principali bersagli terapeutici delle cardiolaminopatie (160).

Le vie di trasduzione del segnale della MAPK chinasi ed AKT/mTOR rappresentano uno dei principali target farmacologici, contro cui sono state sviluppate nuove molecole:

- **Inibitori di MEK1/2**, la chinasi che fosforila ERK1/2 all'inizio della via MAPK, sono in una fase più avanzata dello sviluppo clinico. Il primo inibitore allosterico di MEK1/2 ad essere testato (PD98059) ha migliorato le dimensioni e la funzione del ventricolo sinistro nei topi (96). Tuttavia, è stato superato da un altro inibitore più potente e selettivo, Selumetinib, attualmente in fase III di studi clinici per il cancro. Il trattamento con Selumetinib per 4 settimane in topi *LMNAH222P/H222P* di 16 settimane con disfunzione cardiaca e dilatazione ventricolare, ha impedito ulteriore dilatazione del ventricolo sinistro, ha aumentato la frazione di eiezione ed

ha arrestato il rimodellamento cardiaco e la fibrosi rispetto ai topi trattati con placebo (81).

- **Inibitore delle chinasi c-Jun N-terminale (JNK).** L'inibitore reversibile delle JNKs, SP600125, testato nei topi *LMNAH222P*, ha impedito la dilatazione del ventricolo sinistro, migliorato la funzione sistolica e ridotto la fibrosi miocardica (88).
- **SCH00013**, derivato dalla piridazina con azione di sensibilizzazione al calcio, testato nei topi *LMNAH222P* migliora la contrattilità miocardica e riduce la fibrosi, con un effetto complessivo di aumento della sopravvivenza (81).
- **Inibitori di mTOR** hanno mostrato promettenti miglioramenti in termini di dimensioni e funzione del ventricolo sinistro in modelli animali. La modulazione della via AKT/mTOR con il temsirolimus, analogo sintetico della rapamicina, ripristina l'autofagia e migliora la funzione cardiaca. In particolare, in topi *LMNAH222P/H222P* di 14 settimane, il trattamento con temsirolimus per 2 settimane ha portato alla riduzione dei volumi cardiaci e del diametro del ventricolo sinistro, con miglioramento della frazione d'ejezione rispetto ai topi trattati con placebo. Pertanto, l'inibizione del segnale AKT/mTOR rallenta la disfunzione cardiaca ma, a differenza del Selumetinib, non impedisce la fibrosi (161).
- **Inibitore di p38 $\alpha$  MAPK.** ARRY-371797 (Array BioPharma), small molecule potente inibitore di p38 $\alpha$  MAPK è attualmente in fase III di sperimentazione clinica (**Figura 17**). P38 $\alpha$  MAPK è una proteinchinasi attivata da mitogeno, coinvolta nella risposta allo stress. In studi sugli animali, la perdita di funzione delle lamine determina forti segnali di stress cellulare, che attivano la via p38 MAPK (94). Inoltre, l'attivazione di tale pathway è stata dimostrata anche in biopsie di cuori di pazienti adulti con cardiomiopatia. Le conseguenze a valle dell'attivazione della via p38 MAPK comprendono: aumento dell'apoptosi dei cardiomiociti, ipertrofia dei cardiomiociti, diminuzione della contrattilità ed aumento dell'espressione del NT-proBNP (161). In un modello animale convalidato di cardiomiopatia dilatativa correlata a *LMNA*, ARRY-371797 ha invertito il rimodellamento patologico del ventricolo sinistro. I risultati dello studio

di fase 2 suggeriscono che il trattamento con ARRY-371797 determina: un aumento del livello di capacità funzionale, evidenziato dal miglioramento nella distanza percorsa nel test del cammino (6 minute walking test) e più basse concentrazioni di NT-proBNP. Inoltre, è stata osservato un miglioramento della FAC (frazione di accorciamento) del ventricolo destro ed un aumento rispetto al basale dei punteggi del Questionario sulla Cardiomiopatia di Kansas City (Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire, KCCQ). Il farmaco è stato generalmente ben tollerato con eventi avversi lievi (162). L'extension dello studio ha mostrato come i risultati ottenuti si siano mantenuti nel tempo. Infatti, dopo due anni di somministrazione i pazienti sono stati in grado di camminare più a lungo al 6MWT, confermando il miglioramento della capacità funzionale, e hanno mantenuto livelli di NT-proBNP inferiori ai valori precedenti l'inizio della terapia (163).

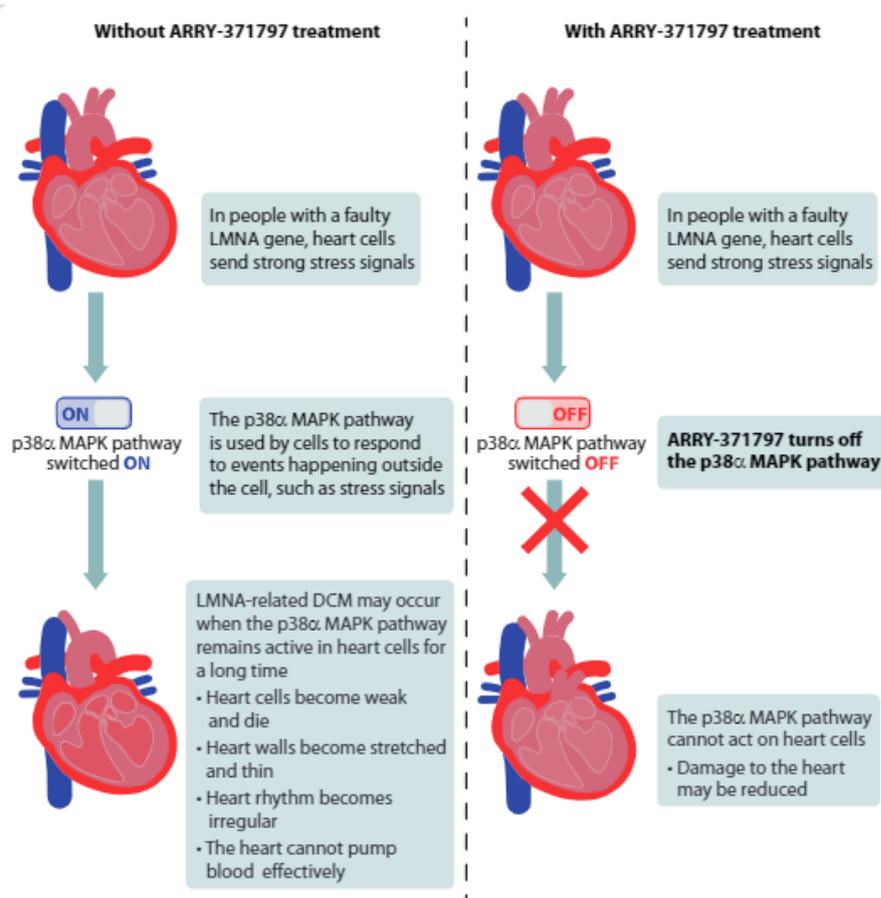


Figura 17 Rappresentazione schematica dell'effetto di ARRY-371797

- Inibitori di cGAS.** Recentemente è stato evidenziato l'importante ruolo delle rotture a doppio filamento del DNA (DSB) nella patogenesi delle cardiolaminopatie. I DSBs rilasciati nel citoplasma vengono rilevati dall'enzima cGAS, sensore citosolico del DNA che attiva le vie di risposta al danno al DNA (DDR), contribuendo così alla morte cellulare, alla disfunzione cardiaca ed alla fibrosi (160). È stato osservato che il blocco delle vie di risposta di danno al DNA, tramite silenziamento del gene codificante cGAS (Mb21d1), prolunga la sopravvivenza, migliora la funzione cardiaca, riduce l'apoptosi dei cardiomiociti ed attenua la fibrosi (**Figura 18**). Pertanto, gli inibitori di cGAS, come G108, G140 e G150 che sono già disponibili, potrebbero rappresentare una nuova strategia terapeutica (164).

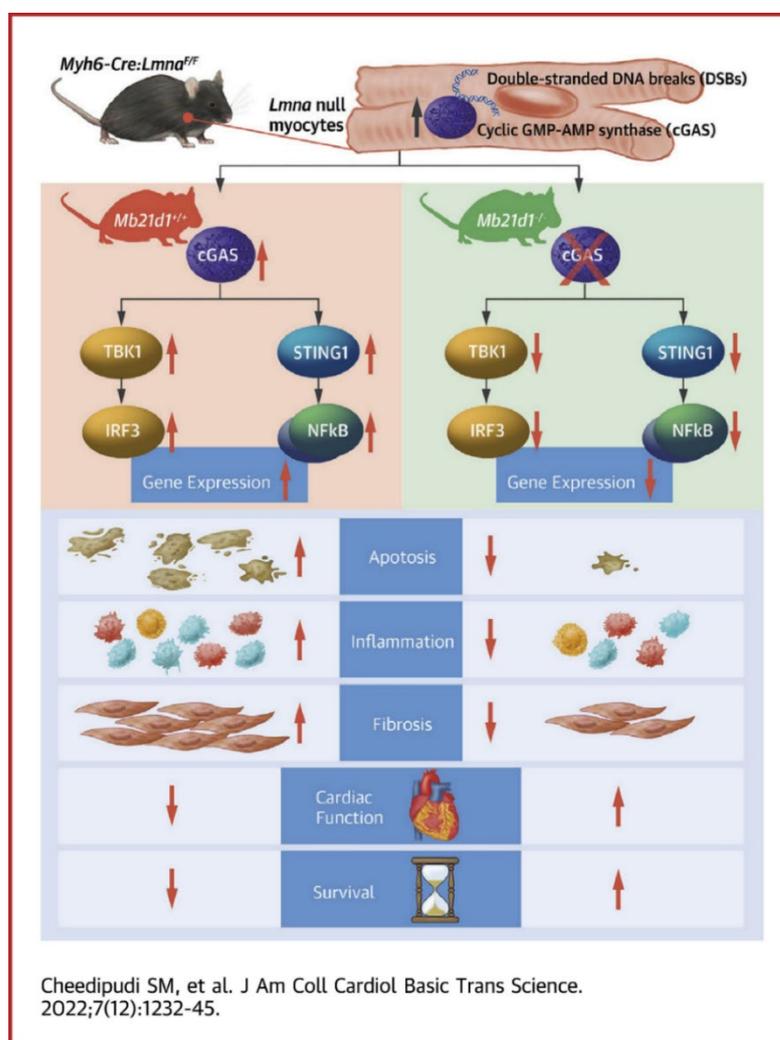


Figura 18 L'ablazione genetica delle pathway di risposta al danno al DNA, tramite il silenziamento di cGAS, attenua la cardiomiopatia LMNA-associata in modelli sperimentali

Un'altra interessante opzione è la terapia genica, infatti la sostituzione del gene *LMNA* è potenzialmente in grado di trattare le cardiolaminopatie dovute ad aploinsufficienza, attraverso il ripristino della funzione del gene. Tuttavia, la terapia genica non è adatta in caso di mutazioni con effetto dominante negativo (161).

L'exon skipping, terapia per ripristinare il frame di lettura o cambiare isoforme proteiche, è attualmente in fase di sperimentazione clinica. Gli oligonucleotidi antisenso (AON) possono saltare efficacemente l'esone 5 del gene *LMNA* nelle cellule umane; pertanto i pazienti con mutazioni a tale livello potrebbero potenzialmente beneficiare di tale terapia (88).

## 2. SCOPO DELLO STUDIO

Gli obiettivi del presente studio sono:

- Caratterizzazione clinico-strumentale dei pazienti, probandi e familiari, con varianti del gene *LMNA*;
- Confronto delle varianti patogene o probabilmente patogene (Classe 4 e 5) e delle varianti di incerto significato (Classe 3) del gene *LMNA*;
- Ricerca di predittori di outcomes nei pazienti con varianti di *LMNA*;
- Confronto delle caratteristiche cliniche e strumentali dei pazienti con varianti patogene o probabilmente patogene (classe 4-5) del gene *LMNA* con pazienti con cardiomiopatia aritmogena left dominant con varianti di *DSP* (Classe 4 e 5).

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1 POPOLAZIONE DI STUDIO

Si tratta di uno studio retrospettivo osservazionale. Dalla coorte di pazienti seguiti presso la Clinica Cardiologica dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Padova, sono stati selezionati coloro in cui era stata individuata la presenza di varianti del gene *LMNA*.

Dalle cartelle cliniche informatizzate (*database* RedCap del Dipartimento di Scienze Cardio-toraco-vascolari e Sanità Pubblica e sistema E-Health) e dalla documentazione cartacea è stato creato un database informatico. I dati dei pazienti raccolti nel database comprendono:

- Generalità del paziente: identificativo, sesso, data di nascita ed età alla diagnosi;
- Data della diagnosi e dei successivi follow-up;
- Familiarità per SCD, DCM, ACM;
- Motivo della visita: scompenso cardiaco, angor, LTA, sincope, cardiopalmo, presenza di BEV all'ECG Holter delle 24 ore, screening;
- Precedenti cardiologici;
- Diagnosi di fibrillazione atriale;
- Attività sportiva;
- Impianto di ICD, specificando se in prevenzione I o II e se già presente alla I visita;
- Classificazione/Criteri ESC 2023: DCM, ARVC, NDLVC;
- Criteri ITF: numero di criteri maggiori e minori, diagnosi (definitiva, borderline, possibile), variante (dominanza destra, dominanza sinistra, biventricolare);
- Criteri di Padova: ARVC, ALVC, BIV;
- Analisi genetica: probando, classificazione ACMG, tipo di mutazione, se presenti più mutazioni;

- Analisi strumentali (ECG a 12 derivazioni, ECG secondo Holter, Ecocardiogramma) e terapia alla prima visita ed al follow-up;
- RMC;
- Follow-up: aritmie ventricolari, trapianto cardiaco, morte cardiaca improvvisa, morte.

Il criterio di inclusione nello studio è stato: presenza di mutazione del gene *LMNA*.

### 3.2 ELETTROCARDIOGRAMMA

Tutti i pazienti hanno eseguito un ECG a 12 derivazioni acquisito tramite dispositivo Philips Pagewriter Trim III e stampati su carta millimetrata, con velocità standard 25 mm/sec, calibrazione di 10 mm/mV, 0.05-150 Hz.

I parametri valutati sono:

- Ritmo cardiaco: sinusale, aritmia sinusale, fibrillazione atriale;
- Frequenza Cardiaca: normale fra 70-120 bpm per gli adolescenti, 60-90 bpm per gli adulti;
- Onde T negative in V1-V3, V4-V6 e/o nelle derivazioni inferiori DII-DIII-aVF;
- Onda Epsilon: segnale riproducibile di basso voltaggio tra la fine del complesso QRS e l'inizio dell'onda T nelle derivazioni precordiali V1-V3;
- QRS frammentato: presenza, nel contesto di un QRS stretto (< 0,5 mV), di vari pattern RSR' in almeno una derivazione;
- Presenza di blocco di branca destro completo: aumento della durata del complesso QRS >120ms con aspetto RSR' in V1 e V2 associato a sottoslivellamento del tratto ST e inversione dell'onda T;
- Presenza di blocco di branca sinistra completo: aumento della durata del complesso QRS > 120ms, onda S profonda in V1- V2 con piccola o assente onda r iniziale, e onda R slargata con notch in V5-V6, spesso anche in DI e aVL, con assente onda q;
- Presenza di disturbi di conduzione;

- Pattern da ripolarizzazione precoce (*slurring*);
- Bassi Voltaggi: definito come QRS di ampiezza <5mm nelle derivazioni periferiche o <10mm nelle precordiali;
- Induzione da pacemaker (PM).

Sono stati considerati normali ECG caratterizzati da: ritmo sinusale, con normale asse del QRS, intervallo PR normale, QRS di durata inferiore a 100 ms nelle precordiali destre, assenza di onde q patologiche o onda epsilon, onde T normali o negative solo in V1, assenza di disturbi di conduzione destra o sinistra o ritardi intraventricolari aspecifici.

### **3.3 ECG DINAMICO SECONDO HOLTER**

I pazienti sono stati sottoposti ad ECG dinamico secondo Holter delle 24 ore. La registrazione è stata effettuata tramite il posizionamento di 10 elettrodi a livello toracico, i quali sono stati collegati ad un elettrocardiografo portatile che ha registrato l'attività cardiaca nelle 24 ore. Durante la registrazione il paziente ha svolto normalmente le sue attività quotidiane, riportando in un diario l'indicazione oraria delle attività praticate, eventuali sintomi o altre condizioni che potevano essere messe in relazione con il riscontro di anomalie all'ECG.

I dati raccolti sono stati analizzati attraverso software dedicati con lo scopo di individuare: fibrillazione atriale, extrasistolia sopraventricolare, battiti ectopici ventricolari isolati, tachicardia ventricolare sostenuta (durata >30 battiti o necessità di intervento immediato per la sintomatologia del paziente) o non sostenuta (durata <30 battiti).

### **3.4 ECOCARDIOGRAFIA**

Le acquisizioni sono state eseguite utilizzando due tipi di ecocardiografo (GE S6 e Philips iE33) dotati di una sonda M5S. Per ciascun paziente le immagini sono state ottenute utilizzando un protocollo standardizzato, includendo le acquisizioni M-mode, bidimensionali e doppler attraverso proiezioni "parasternale" asse lungo e asse corto, "apicale" e "sottocostale".

Sono stati valutati:

- Volumi ventricolari telediastolici sinistri, con un modello area-lunghezza (ellissoide biplano) nella proiezione apicale quattro camere;

- Frazione di eiezione sinistra, con la formula (volume telediastolico – volume telesistolico) / volume telediastolico;
- Dimensioni del ventricolo destro, tramite misurazione dell'ATD (area telediastolica);
- Tratto di efflusso VD;
- Funzione ventricolare destra, attraverso il calcolo della frazione di accorciamento o di eiezione;
- Alterazioni della cinetica segmentaria;
- Bulging di parete;
- Anomalie valvolari.

I parametri volumetrici sono stati indicizzati in rapporto alla superficie corporea considerando il Body Surface Area (BSA) in ml/m<sup>2</sup>. Le misure ecocardiografiche sono state valutate in accordo con le raccomandazioni internazionali.

### **3.5 RISONANZA MAGNETICA CARDIACA**

Le RMC sono state eseguite utilizzando uno scanner a 1,5 T (Magnetom Avanto, Siemens Healthcare, Germania). Gli esami eseguiti presso altra sede sono stati revisionati utilizzando un software per post processing dedicato (CVI4.2, Circle International; Calgary, Alberta, Canada).

- La valutazione morfo-funzionale biventricolare è stata eseguita su immagini cinetiche in asse corto utilizzando sequenze Steady State Free Precession (SSFP), in almeno 11 assi corti e 3 assi lunghi, dal piano mitralico fino all'apice cardiaco.
- Il calcolo di volumi, massa e funzione è stato eseguito in post-processing grazie ad un software specifico (Circle Cardiovascular Imaging, CVI4.2, Circle International; Calgary, Alberta, Canada).
- Per la cinetica segmentaria dei due ventricoli, si sono definiti quadri patologici o normali sulla base della presenza o meno di ipocinesia, acinesia e/o discinesia.
- La caratterizzazione tissutale è stata valutata in maniera indipendente da due esaminatori esperti; si è ricercata la presenza di infiltrazione adiposa con

l'utilizzo di sequenze Turbo Spin-Echo (TSE) T1-pesate nelle quali le camere ventricolari appaiono di colore nero (black blood), il muscolo ipointenso e il grasso iperintenso. L'infiltrazione adiposa è stata confermata con l'utilizzo di sequenze Short-Tau Inversion Recovery (STIR) fat-saturated T2-pesate. Per l'identificazione di edema miocardico si sono utilizzate sequenze Turbo Inversion Recovery Magnitude (TIRM) che restituiscono un segnale iperintenso in caso di aumento della componente liquida. La valutazione della fibrosi è stata eseguita con sequenze Inversion Recovery (IR) o GradientEcho (GRE), almeno 10 minuti dopo l'iniezione endovenosa di 0,2 mmol/Kg di gadolinio (Gadobenate Dimeglumine, Multihance; Bracco), nelle stesse proiezioni acquisite per le immagini cinetiche. I tempi di inversione sono stati manualmente aggiustati con soppressione del miocardio normale, per ottimizzare la qualità dell'immagine. Sono state ricercate la presenza/assenza di segni di impregnazione tardiva di gadolinio biventricolare e la tipologia del pattern (ischemico, non-ischemico o giunzionale). Il late gadolinium enhancement (LGE) è stato definito positivo se visibile nella stessa sede in due proiezioni ortogonali.

### **3.6 TEST GENETICO**

Ogni paziente è stato sottoposto a test genetici utilizzando campioni di sangue venoso. Tutti i soggetti hanno dato il consenso informato orale e scritto in conformità con le linee guida del comitato etico locale per l'analisi genetica eseguita presso il Centro di Patologia Cardiovascolare e Anatomia Patologica (Dipartimento di Scienze Cardio-toraco-vascolari e Sanità Pubblica) o nel laboratorio di genetica umana del Dipartimento di Biologia dell'Università di Padova.

Il test è stato eseguito utilizzando le metodiche di Polymerase Chain Reaction (PCR) per l'amplificazione del DNA e di sequenziamento diretto secondo Sanger per l'analisi delle regioni codificanti e delle sequenze introniche adiacenti dei geni associati alla CA (DSP, PKP2, DSG2, JUP, DSC2) e alla DCM (LMNA, TTN, DSP, PKP2, DSG2, JUP, DSC2).

In aggiunta è stato utilizzato il sistema di Next Generation Sequencing per lo studio di un pannello di 40-60 geni associati ad altre cardiomiopatie, tra i

quali sono presenti i geni non desmosomiali associati alla CA (RYR2, TGF- $\beta$ 3, TMEM43, DES, TTN, LMNA, PLN e molti altri).

Nei familiari dei probandi la ricerca genetica è stata eseguita limitatamente alla ricerca della mutazione genetica identificata nel probando. Ogni mutazione è stata identificata a seconda della tipologia in missenso, non senso, splicing (macrodelezione, macroduplicazione) e copy number variation ed il suo significato è stato definito come patogeno o incerto in accordo con la letteratura e la Arrhythmogenic Cardiomyopathy Genetic Variant Database.

Le varianti genetiche di significato patogeno o verosimilmente patogeno sono state definite col termine di “mutazione genetica”.

### **3.7 DEFINIZIONE DELL’OUTCOME**

Il follow-up dei pazienti è stato analizzato per verificare l’insorgenza di un outcome primario, definito come: insorgenza di aritmia ventricolare maggiore (MVA), recidiva di aritmia ventricolare maggiore, insorgenza di scompenso cardiaco, trapianto cardiaco, morte per cause cardiovascolari, morte cardiaca improvvisa ed episodi di hot phase. In particolare:

- MVA: presenza di uno o più episodi di tachicardia ventricolare sostenuta (VT), definiti dalla presenza di tachicardia regolare con una mean cycle length  $> 240$  ms e di durata  $> 30$  s. Presenza di uno o più episodi di fibrillazione ventricolare (FV), definiti come tachicardia regolare o irregolare considerando la polarità, l’ampiezza e la morfologia, ciclo  $\leq 240$  ms. Nei pazienti con ICD, sono stati considerati interventi appropriati di ICD quelli avvenuti quando i battiti per minuto dell’aritmia ventricolare erano  $> 200$  bpm (ciclo  $< 300$  ms);
- Scompenso cardiaco: definito come presenza di segni e sintomi di scompenso cardiaco con necessità di ospedalizzazione;
- Morte per cause cardiovascolari: a causa di scompenso cardiaco;
- Morte cardiaca improvvisa;
- Hot phase: definita dalla presenza di episodi e sintomi simili a quelli di una miocardite: dolore al petto, elevazione della troponina ed anormalità all’ECG con arterie coronarie nella norma.

### **3.8 ANALISI STATISTICA**

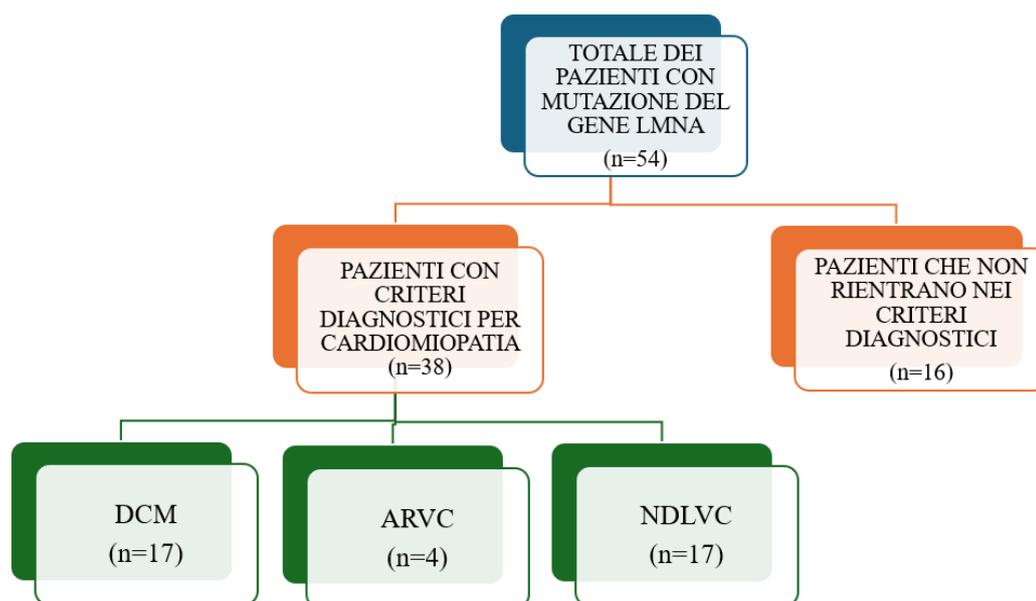
I dati sono espressi come valore assoluto oppure come valore medio associando la deviazione standard. La distribuzione normale è stata valutata utilizzando il test di Shapiro-Wilk. Le differenze di categoria tra i gruppi sono state valutate con il test del  $\chi^2$  e con il test esatto di Fisher a seconda dei casi. Per lo studio i fattori predittori di outcome sono i parametri che sono stati valutati attraverso la regressione logistica univariata. Per tutte le analisi è stato ritenuto significativo una  $p < 0.05$ .

## 4. RISULTATI

### 4.1 CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE CON MUTAZIONI DEL GENE *LMNA* E CONFRONTO TRA I DIVERSI FENOTIPI

La popolazione oggetto di studio include 54 pazienti, di cui 38 (70.37%) che rispettano i criteri diagnostici per cardiomiopatia (109) e 16 (29.63%) che non li rispettano (gruppo senza criteri). I primi sono stati ulteriormente suddivisi in 3 gruppi in base al fenotipo (**Figura 19**):

- 17 pazienti (44.74%) con diagnosi di cardiomiopatia dilatativa (DCM);
- 17 pazienti (44.74%) con diagnosi di cardiomiopatia non dilatativa del ventricolo sinistro (NDLVC);
- 4 pazienti (10,52%) con diagnosi di cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro (ARVC).



*Figura 19 Popolazione di studio*

#### 4.1.1 Caratteristiche cliniche e di outcome

Le caratteristiche clinico strumentali dei pazienti suddivisi per fenotipo sono riassunte nella tabella III. Il numero ridotto dei pazienti nei vari gruppi non ci ha permesso di effettuare analisi statistiche comparative.

<b>Variabile</b>	<b>Popolazione totale</b>	<b>DCM</b>	<b>ARVC</b>	<b>NDLC</b>	<b>Pz che non rientrano nei criteri diagnostici</b>
	<b>n=54</b>	<b>n=17 (31.5%)</b>	<b>n=4 (7.5%)</b>	<b>n=17 (31.5%)</b>	<b>n=16 (29,5%)</b>
<b>Età alla diagnosi</b>					
-Media (DS)	53.3 (15.81)	45.88 (15.61)	34.7(20.1)	40.53(14.65)	
-Intervallo	12-76	12-76	17-54	17-65	
<b>Sesso maschile</b>	63% (n=34)	65%(n=11)	50%(n=2)	53% (n=9)	75% (n=12)
<b>Sesso femminile</b>	37% (n=20)	35% (n=6)	50%(n=2)	47% (n=8)	25% (n=4)
<b>Familiarità per SCD</b>	27.78% (n=15)	23.5% (n=4)	0	23.5% (n=4)	43.75% (n=7)
<b>Familiarità per DCM</b>	27.78% (n=15)	58.88% (n=10)	25% (n=1)	11.76% (n=2)	12.5% (n=2)
<b>Familiarità per ARVC</b>	22.22% (n=12)	0	25% (n=1)	35,3% (n=6)	31.25% (n=5)
<b>Motivo della diagnosi</b>					
1-Scompenso	7.4% (n=4)	23,5%(n=4)	0	0	0
2-Angor	3.7% (n=2)	0	0	5.88% (n=1)	6.25% (n=1)
3-LTA	14.8% (n=8)	17.64%(n=3)	0	11.76% (n=2)	18.75%(n=3)
4-Sincope	1.8% (n=1)	0	0	0	6.25% (n=1)
5-Cardiopalmò	16.67%(n=9)	17.64%(n=3)	0	35.39% (n=6)	0
6-BEV all'holter	14.8% (n=8)	11.76%(n=2)	75%(n=3)	5.88% (n=1)	12.5% (n=2)
7-Screening	40.7%(n=22)	29.41%(n=5)	25%(n=1)	41.2%(n=7)	56.3%(n=9)
<b>Fibrillazione atriale</b>	18.52% (n=10)	41.17% (n=7)	0	11.76% (n=2)	6.25% (n=1)
<b>Diagnosi di precedente miocardite</b>	14.8% (n=8)	23.5% (n=4)	0	23.5% (n=4)	0
<b>Ablazione nodo AV</b>	11.11% (n=6)	17.65% (n=3)	0	17.65% (n=3)	0
<b>Sport</b>	38.9%(n=21)	11.76%(n=2)	75%(n=3)	47% (n=8)	50% (n=8)
<b>Biopsia endo- miocardica</b>	16.67% (n=9)	35.29% (n=6)	0	17.64% (n=3)	0
<b>Impianto di ICD</b>	33.33% (n=18)	58.82% (n=10)	0	32.3% (n=6)	12.5% (n=2)

-Prevenzione I	44.44% (n=8)	60% (n=6)	0	16.67%(n=1)	6.25% (n=1)
-Prevenzione II	55.6%(n=10)	40% (n=4)	0	83.3%(n=5)	6.25% (n=1)
<b>Durata follow-up</b>					
-Media (DS)	4.24 (4.27)	3.59 (5.61)	4.5 (4.51)	5.56 (4.21)	4.58 (2.19)
-Intervallo	0,25-22	0.25-22	1-11	2-15	2-8
<b>Aritmie ventricolari maggiori</b>	27.78% (n=15)	41.17% (n=7)	25% (n=1)	29.41% (n=5)	12.5% (n=2)
Età media (DS)	48.13 (13.82)	52.14 (11.19)	19 (0.0)	47.8 (7.05)	49.5 (27.5)
<b>Recidiva MVA</b>	46.67% (n=7)	57.14% (n=4)	0	60% (n=3)	0
<b>Scompenso</b>	14.81% (n=8)	35.29% (n=6)	0	11.8%(n=2)	0
Età media (DS)	48.38 (11.43)	47.17 (13.01)		52 (5.66)	
<b>Morte</b>	7.40% (n=4)	5.88% (n=1)	25%(n=1)	0	12.5% (n=2)
Età media (DS)	33.5 (22.28)	66 (0.0)	19 (0.0)		24.5 (7.78)
<b>Morte cardiaca improvvisa</b>	3.7% (n=2)	0	0	0	12.5% (n=2)
Età media (DS)	24.5 (7.78)				24.5 (7.78)
<b>Trapianto cardiaco</b>	16.67% (n=9)	41.17% (n=7)	0	11.8%(n=2)	0
Età media (DS)	47.67 (10.58)	46.4 (13.45)		52.5 (6.36)	
<b>Hot phases</b>	5.56% (n=3)	11.76% (n=2)	0	0	6.25% (n=1)
Età media (DS)	45.67%(3.21)	44.5 (3.54)			48 (0.0)

Tabella III Tabella caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome dei pazienti con mutazione del gene LMNA

Nella popolazione totale l'età media alla diagnosi era 53.3 ( $\pm$ 15.81) anni con un intervallo compreso tra 12 e 76 anni, nei pazienti con DCM 45.88  $\pm$  15.61 anni, in quelli con ARVC 34.7 $\pm$ 20.1 anni ed in quelli con NDLVC 40.53 $\pm$ 14.65 anni. Nella popolazione generale i soggetti di sesso maschile erano 34 (63%); in particolare 11 nel gruppo con DCM (65%), 2 in quello con ARVC (50%), 9 nel gruppo con NDLVC (53%) e 12 in quello senza criteri (75%). L'anamnesi familiare per SCD era positiva in: 4 (23.5%) pazienti con DCM, 4 (23.5%) con NDLVC e 7 (43.75%) senza criteri. La familiarità per DCM era positiva in: 10 pazienti (58.88%) con DCM, 1 (25%) con ARVC, 2 (11.76%) con NDLVC e 2 (12.5%) senza criteri. Infine, la familiarità per ARVC è stata rilevata in: 1 soggetto (25%) con ARVC, 6 (35.3%) con NDLVC e 5 (31.25%) senza criteri. Un'anamnesi positiva per fibrillazione atriale è stata riscontrata in 10 pazienti (18.52%) della popolazione totale; nel dettaglio in 7 pazienti con DCM (41.17%), 2 con NDLVC (11.76%) ed

in 1 senza criteri (6.25%). L'ablazione del nodo atrioventricolare è stata eseguita in 6 pazienti (11,11%) della popolazione generale; nello specifico in 3 pazienti con DCM (17.65%) e 3 con NDLCV (17.65%). Una precedente diagnosi di miocardite è stata fatta in 4 pazienti (23.5%) con DCM e 4 (23.5%) con NDLCV. Il 75% dei pazienti (n=3) con ARVC praticava attività sportiva, seguito dal 50% dei pazienti (n=8) del gruppo senza criteri, dal 47% dei soggetti (n=8) con NDLCV e dal 11.76% (n=2) di quelli con DCM.

L'ICD è stato impiantato in:

- 10 pazienti (58.82%) del gruppo DCM, di cui 6 (60%) in prevenzione primaria e 4 (40%) in prevenzione secondaria;
- 6 pazienti (32.3%) con NDLCV, di cui 1 (16.67%) in prevenzione primaria e 5 (83.3%) in prevenzione secondaria;
- 2 pazienti (12.5%) senza criteri, di cui 1 (6.25%) in prevenzione primaria e 1 (6.25%) in prevenzione secondaria.

I motivi principali della diagnosi sono riportati nella Figura 20:

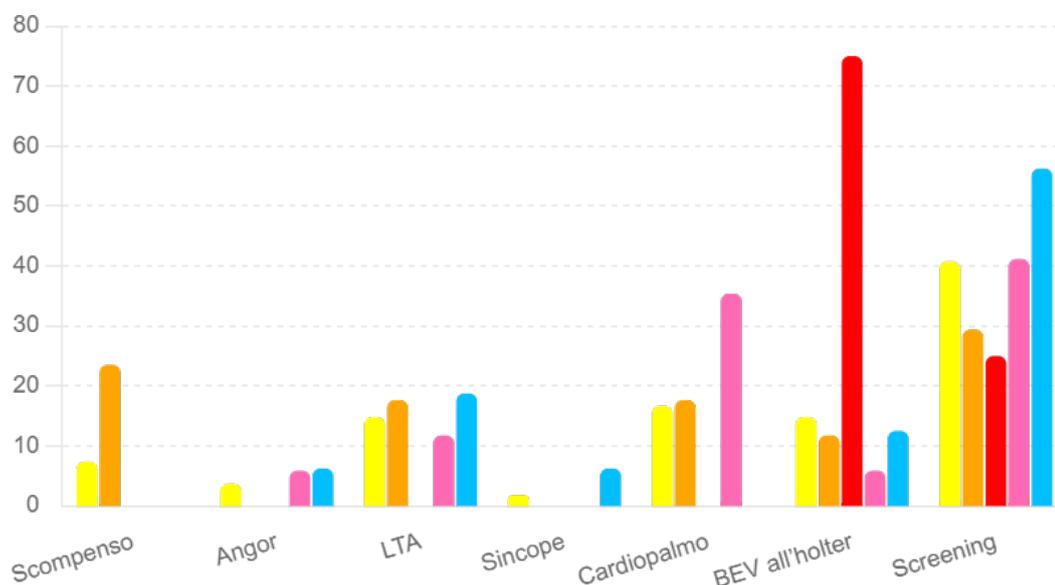


Figura 20 Grafico che mostra il motivo della diagnosi (scompenso, angor, LTA, sincope, cardiopalmo, riscontro di BEV all'holter, screening) in ascissa ed in ordinata la loro frequenza nei 4 gruppi di pazienti. Giallo=popolazione totale, arancione=DCM, rosso= ARVC, rosa=NDLCV, celeste= gruppo senza criteri.

La durata complessiva media del follow-up è stata di 4.24(±4.27) anni, con una durata minima di 3 mesi e massima di 22 anni. Durante questo periodo si sono verificati:

- Aritmie ventricolari maggiori in 15 pazienti (27.78%) della popolazione totale ad un'età media di 48.13 ( $\pm$ 13.82) anni, con un tasso di recidiva del 46.67% (7 pazienti). Le aritmie ventricolari maggiori sono risultate più frequenti nel gruppo con DCM (41.17%) ad un'età media di 52.14 (11.19) anni, con un tasso di recidiva del 57.14% (4 pazienti);
- Scoppio in 8 pazienti (14.81%) della popolazione totale, ad un'età media di 48.38 ( $\pm$ 11.43) anni. Lo scoppio presentava maggiore incidenza nel gruppo con DCM (35.29%), ad un'età media di 47.17 ( $\pm$ 13.01) anni;
- Morte in 4 pazienti (7.4%) della popolazione generale ad un'età media di 33.5 ( $\pm$ 22.28) anni. La morte era più frequente nel gruppo senza criteri (12.5%), ad un'età media di 24.5 ( $\pm$ 7.78) anni;
- Morte cardiaca improvvisa in 2 pazienti (3.7%) della popolazione generale ad un'età media di 24.5 ( $\pm$ 7.78) anni, entrambi appartenenti al gruppo senza criteri ed in cui la mutazione del gene *LMNA* è stata riscontrata all'autopsia;
- Trapianto cardiaco in 9 pazienti (16.67%) della popolazione totale ad un'età media di 47.67 ( $\pm$ 10.58) anni. La necessità di trapianto è stata più frequente nel gruppo con DCM (41.17%) ad un'età media di 46.6 ( $\pm$ 13.45) anni;
- Hot phases in 3 pazienti (5.56%) della popolazione totale ad un'età media di 45.67 ( $\pm$ 3.21). Il riscontro di hot phases è risultato maggiore nei pazienti del gruppo con DCM (11.76%) ad un'età media di 44.5 ( $\pm$ 3.54) anni.

#### 4.1.2 Esami strumentali

Nella tabella IV sono riportate le caratteristiche elettrocardiografiche e strumentali alla prima valutazione presso il nostro ambulatorio.

Variabile	Totale pazienti  n=54	DCM  n=17	ARVC  n=4	NDLVC  n=17	Pz che non rientrano nei criteri diagnostici  n=16
<b>EGC anormale</b>	72.22% (n=39)	94.12% (n=16)	100% (n=4)	64.71% (n=11)	50% (n=8)
<b>T neg. V1-V3</b>	11.11% (n=6)	5.88% (n=1)	25% (n=1)	23.5% (n=4)	0
<b>T neg. V4-V6</b>	9.25% (n=5)	11.76% (n=2)	0	17.64% (n=3)	0

<b>T neg. inferiori</b>	7.4% (n=4)	17.6% (n=3)	0	5.88% (n=1)	0
<b>Onda epsilon</b>	1.85% (n=1)	0	0	5.88% (n=1)	0
<b>QRS frammentato</b>	3.7% (n=2)	0	25% (n=1)	5.88% (n=1)	0
<b>BBSin</b>	3.7% (n=2)	5.8%(n=1)	0	5.88% (n=1)	0
<b>BBDx</b>	14.81% (n=8)	5.88% (n=1)	25% (n=1)	17.64 % (n=3)	18.75% (n=3)
<b>Disturbi di conduzione</b>	24.07% (n=13)	23.5% (n=4)	50% (n=2)	23.5% (n=4)	18.75% (n=3)
<b>Pattern da ripolarizzazione precoce</b>	5.56% (n=3)	0	0	5.88% (n=1)	12.5% (n=2)
<b>LQRSV precordiali</b>	11.11% (n=6)	5.56% (n=3)	0	17.64 % (n=3)	0
<b>LQRSV periferiche</b>	25.92% (n=14)	47.05% (n=8)	50% (n=2)	23.5% (n=4)	0
<b>Ritmo da pacemaker</b>	9.26% (n=5)	29.41% (n=5)	0	0	0
<b>FE SX</b>					
-Media (DS)	56.4 (11.1)	52.2(12.59)	59.5 (10.6)	60.53 (9.83)	61.13 (3.76)
-Intervallo	23-78	23-66	50-71	33-78	56-70
<b>FAC</b>					
-Media (DS)	39.6 (6.83)	38.29(4.50)	38.75 (1.5)	39.41(10.58)	41.38 (4.22)
- Intervallo	16-57	28-48	37-40	16-42	34-50
<b>VTDSX</b>					
-Media (DS)	67.5 (16.1)	80.6(18.46)	61.0 (4.32)	62.88(11.55)	60.19 (10.57)
- Intervallo	35-120	59-120	55-65	38-88	35-77
<b>ATD</b>					
-Media (DS)	11.6 (3.19)	11.88(4.03)	11.39(1.8)	12.6 (83.56)	10.27 (1.06)
- Intervallo	6.00-21.3	7.09-21.3	10-14	6-16.5	9.24-12
<b>Pazienti sottoposti a CMR</b>	85.18% (n=46)	82.35% (n=14)	100% (n=4)	100% (n=17)	68.75% (n=11)
<b>VTD VDX</b>					
-Media (DS)	95.1(28.29)	106.7(38.3)	95.5 (42.0)	95.12(23.23)	82.18 (8.96)
-Intervallo	45-183	45-183	72-159	62-150	68-93
<b>FE VDX</b>					
-Media (DS)	53.2 (13.3)	44.42(15.3)	56.(19.90)	55.75(11.69)	57.91 (3.36)
- Intervallo	21-74	21-74	31-73	25-70	52-62

<b>Alt. Cinetica</b>	39.13%	50%	100%	41.17%	0
<b>VDX</b>	(n=18)	(n=7)	(n=4)	(n=7)	
<b>LGE VDX</b>	23.91%	7.14%	50%	41.17%	9.09%
	(n=11)	(n=1)	(n=2)	(n=7)	(n=1)
<b>VTD SX</b>					
-Media (DS)	99.5 (46.8)	114.3(41.9)	87.0 (7.75)	89.65(22.15)	78.91 (13.23)
- Intervallo	51-209	67-209	76-90	65-150	51-93
<b>FE SX</b>					
-Media (DS)	53.8 (12.5)	42.2(13.36)	62.5(3.11)	56.35(10.44)	60.45 (4.20)
- Intervallo	21-73	21-60	60-67	33-73	54-69
<b>Alt. Cinetica</b>	47.83%	92.86%	25%	41.17%	9.09%
<b>VSn</b>	(n=22)	(n=13)	(n=1)	(n=7)	(n=1)
<b>LGE Vsin</b>	67.39%	78.57%	50%	88.24%	27.27%
	(n=31)	(n=11)	(n=2)	(n=15)	(n=3)
<b>N. segmenti</b>					
<b>LGE</b>					
-Media (DS)	2.06 (2.15)	2.99 (2.71)	1.00 (1.41)	2.06 (1.65)	1.0 (0.0)
- Intervallo	0-10	0-10	0-3	0-7	1
<b>LGE&gt;3</b>	26.08%	50%	25%	23.53%	0
<b>segmenti</b>	(n=12)	(n=7)	(n=1)	(n=4)	
<b>LGE&gt;2</b>	50%	71.43%	25%	70.59%	0
<b>segmenti</b>	(n=23)	(n=10)	(n=1)	(n=12)	
<b>LGE</b>	8.7%	14.29%	0	11.76%	0
<b>endocardico</b>	(n=4)	(n=2)		(n=2)	
<b>LGE</b>	50%	64.29%	0	58.82%	36.36%
<b>mesocardico</b>	(n=23)	(n=9)		(n=10)	(n=4)
<b>LGE epicardico</b>	13.04%	0	50%	23.53%	0
	(n=6)		(n=2)	(n=4)	
<b>LGE</b>	4.34%	7.14%	0	0	9.09%
<b>transmurale</b>	(n=2)	(n=1)			(n=1)
<b>Infiltrazione</b>	10.87%	0	50%	17.65%	0
<b>adip. Vdx</b>	(n=5)		(n=2)	(n=3)	
<b>Infiltrazione</b>	6.52%	0	25%	11.76%	0
<b>adip. Vsin</b>	(n=3)		(n=1)	(n=2)	

Tabella IV Risultati degli esami strumentali (ecg, eco, CMR) dei pazienti con mutazione del gene LMNA

#### 4.1.2.1 Caratteristiche elettrocardiografiche

L'ECG è risultato anormale in 39 pazienti (72.22%) (**Figura 21**). Le alterazioni più frequentemente riscontrate sono state: bassi voltaggi nelle derivazioni periferiche

(LQRSV) in 14 pazienti (25.92%), principalmente nel gruppo con DCM (47.05%), e disturbi di conduzione in 13 pazienti (24.07%), soprattutto nel gruppo con DCM (23.5%) ed in quello con NDLCV (23.5%).

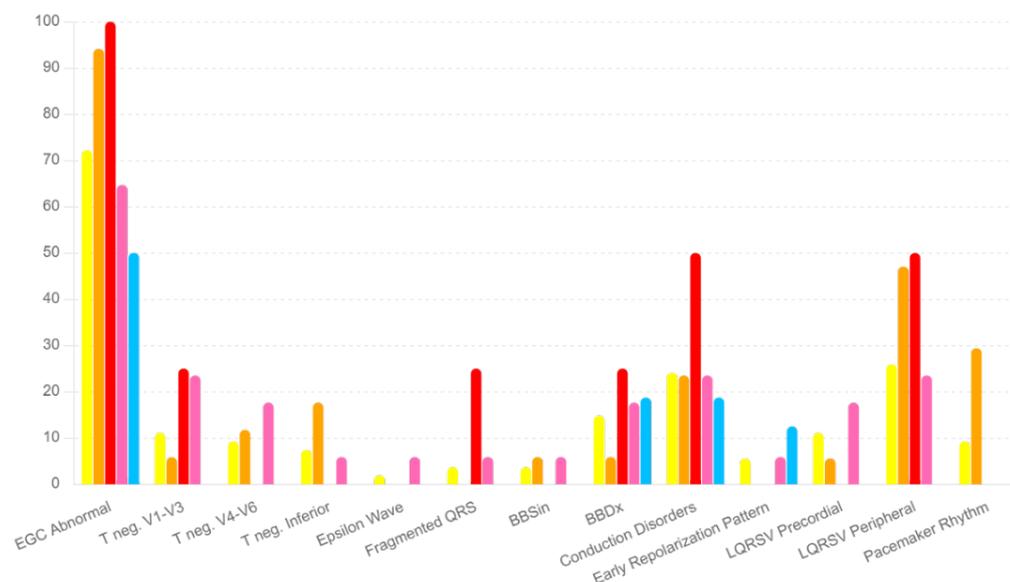


Figura 21 Istogramma che illustra le caratteristiche elettrocardiografiche della popolazione di studio, suddivisa in base ai 4 fenotipi. Giallo=popolazione totale, arancione=DCM, rosso= ARVC, rosa=NDLCV, celeste= pazienti senza criteri.

#### 4.1.2.2 Caratteristiche ecocardiografiche

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad ecocardiografia. La frazione d'eiezione ventricolare sinistra media nella popolazione totale era di 56.4 ( $\pm 11.1$ )%, con un intervallo di 23-78%; nel gruppo con DCM 52.2 ( $\pm 12.59$ )%, nel gruppo con ARVC 59.5 ( $\pm 10.6$ )%, nel gruppo con NDLCV 60.53 ( $\pm 9.83$ )% e nel gruppo senza criteri 61.13 ( $\pm 3.76$ )% (**Figura 22**). La frazione di accorciamento (FAC) media nella popolazione totale era 39.6 ( $\pm 6.83$ )%, con un intervallo di 16-57%; nel gruppo con DCM 38.29 ( $\pm 4.50$ )%, nel gruppo con ARVC 38.75 ( $\pm 1.5$ )%, nel gruppo con NDLCV 39.41 ( $\pm 10.58$ )% e nel gruppo senza criteri 41.38 ( $\pm 4.22$ )%. Il volume telediastolico medio del ventricolo sinistro nella popolazione totale era 67.5 ( $\pm 16.1$ ) ml/m<sup>2</sup> con un intervallo di 35-120 ml/m<sup>2</sup>; nel gruppo con DCM 80.6 ( $\pm 18.46$ ) ml/m<sup>2</sup>, nel gruppo con ARVC 61.0 ( $\pm 4.32$ ) ml/m<sup>2</sup>, nel gruppo con NDLCV 62.88 ( $\pm 11.55$ ) ml/m<sup>2</sup> e nel gruppo senza criteri 60.19 ( $\pm 10.57$ ) ml/m<sup>2</sup>. Infine, l'area telediastolica media del ventricolo destro nella popolazione totale era 11.6 ( $\pm 3.19$ ) cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>, nel gruppo con DCM 11.88 ( $\pm 4.03$ ) cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>, nel gruppo con ARVC 11.39 ( $\pm 1.8$ ) cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>, nel gruppo con NDLCV 12.6 (3.56) cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup> e nel gruppo senza criteri 10.27 (1.06) cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>.

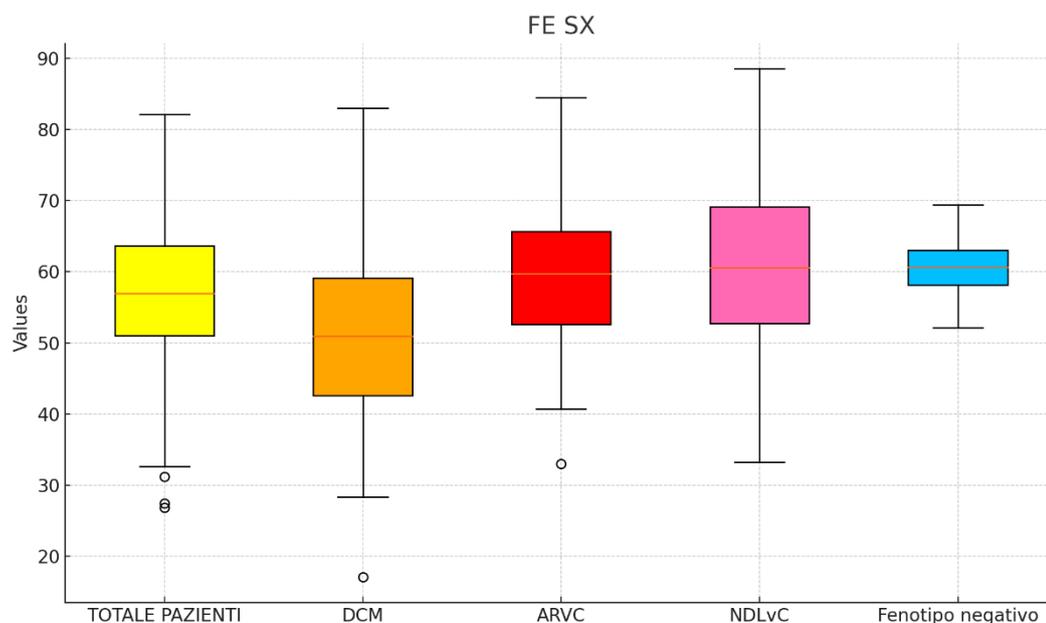


Figura 22 Box plot per FE nei vari gruppi. Giallo=popolazione totale, arancione=DCM, rosso= ARVC, rosa=NDLVC, celeste= pazienti del gruppo senza criteri.

#### 4.1.2.3 Caratteristiche RMC

46 pazienti (85.18%) della popolazione totale sono stati sottoposti a RMC, di cui 14 con DCM, 4 con ARVC, 17 con NDLCV e 11 senza criteri, ottenendo i seguenti risultati:

- Il volume telediastolico medio del ventricolo destro nella popolazione totale era 95.1 ( $\pm 28.29$ ) ml/m<sup>2</sup> con un intervallo compreso tra 45-183 ml/m<sup>2</sup>, nei pazienti con DCM 106.7 ( $\pm 38.3$ ) ml/m<sup>2</sup>, nei pazienti con ARVC 95.5 ( $\pm 42.0$ ) ml/m<sup>2</sup>, nei pazienti con NDLCV 95.12 ( $\pm 23.23$ ) ml/m<sup>2</sup> e nei pazienti senza criteri 82.18 ( $\pm 8.96$ ) ml/m<sup>2</sup>.
- La frazione d’ieiezione del ventricolo destro media nella popolazione totale era 53.2( $\pm 13.3$ )% con un intervallo compreso tra 21-74%, nei pazienti con DCM è 44.42( $\pm 15.3$ )%, nei pazienti con ARVC 56 ( $\pm 19.90$ )%, nei pazienti con NDLCV era 55.75 ( $\pm 11.69$ )% e nei pazienti senza criteri 57.91( $\pm 3.36$ )%.
- Le alterazioni della cinetica del ventricolo destro sono state riscontrate in 18 pazienti (39.13%) della popolazione totale: 7 pazienti del gruppo con DCM (50%), 4 pazienti con ARVC (100%) e 7 pazienti con NDLCV (41.17%).
- Il late gadolinium enhancement (LGE) del ventricolo destro è stato rilevato in 11 pazienti (23.91%) della popolazione totale: 1 paziente del gruppo con

DCM (7.14%), 2 pazienti con ARVC (50%), 7 pazienti con NDLCV (41.17%) e 1 paziente senza criteri (9.09%).

- Il volume telediastolico medio del ventricolo sinistro nella popolazione totale era 99.5 ( $\pm 46.8$ ) ml/m<sup>2</sup> con un intervallo di 51-209 ml/m<sup>2</sup>, nei pazienti con DCM 114.3 ( $\pm 41.9$ ) ml/m<sup>2</sup>, nei pazienti con ARVC 87.0 ( $\pm 7.75$ ) ml/m<sup>2</sup>, nei pazienti con NDLCV 89.65 ( $\pm 22.15$ ) ml/m<sup>2</sup> e nei pazienti senza criteri 78.91 ( $\pm 13.23$ ) ml/m<sup>2</sup>.
- La frazione d'eiezione del ventricolo sinistro media nella popolazione totale era 53.8 ( $\pm 12.5$ )%, nei pazienti con DCM 42.2 ( $\pm 13.36$ )%, nei pazienti con ARVC 62.5 ( $\pm 3.11$ )%, nei pazienti con NDLCV 56.35 ( $\pm 10.44$ )% e nei pazienti senza criteri 60.45 ( $\pm 4.20$ )%.
- Le alterazioni della cinetica del ventricolo sinistro sono state riscontrate in 22 pazienti (47.83%) della popolazione totale: in 13 pazienti del gruppo con DCM (92.86%), in 1 paziente con ARVC (25%), in 7 pazienti con NDLCV (41.17%) ed in 1 paziente senza criteri (9.09%).
- Il late gadolinium enhancement (LGE) del ventricolo sinistro è stato rilevato in 31 pazienti (67.39%) della popolazione totale: in 11 pazienti del gruppo con DCM (78.57%), in 2 pazienti con ARVC (50%), in 15 pazienti con NDLCV (88.24%) ed in 3 pazienti senza criteri (27.27%).
- Il numero di segmenti con LGE medio nella popolazione generale era 2.06 ( $\pm 2.15$ ) con un intervallo compreso tra 0 e 10 segmenti, nei pazienti con DCM 2.99 ( $\pm 2.71$ ), nei pazienti con ARVC 1.00 ( $\pm 1.41$ ), nei pazienti con NDLCV 2.06 ( $\pm 1.65$ ) e nei pazienti senza criteri 1 ( $\pm 0.0$ ).
- LGE in più di 3 segmenti è stato riscontrato in 12 pazienti (26.08%) della popolazione totale: in 7 pazienti del gruppo con DCM (50%), in 1 paziente con ARVC (25%) ed in 4 pazienti con NDLCV (23.53%).
- LGE in più di 2 segmenti è stato riscontrato in 23 pazienti (50%) della popolazione generale: in 10 pazienti del gruppo con DCM (71.43%), in 1 paziente con ARVC (25%), ed in 12 pazienti con NDLCV (70.59%).
- LGE endocardico è stato rilevato in 4 pazienti (8.7%) della popolazione totale: in 2 pazienti del gruppo con DCM (14.29%) ed in 2 pazienti con NDLCV (11.76%).

- LGE mesocardico è stato rilevato in 23 pazienti (50%) della popolazione totale: in 9 pazienti del gruppo con DCM (64.29%), in 10 pazienti con NDLCV (58.82%) ed in 4 pazienti senza criteri (36.36%).
- LGE epicardico è stato rilevato in 6 pazienti (13.04%) della popolazione totale: in 2 pazienti del gruppo con ARVC (50%) e in 4 pazienti con NDLCV (23.53%).
- LGE transmurale è stato rilevato in 2 pazienti della popolazione totale (4.34%): in 1 paziente del gruppo con DCM (7.14%) ed in 1 paziente senza criteri (9.09%).
- L'infiltrazione adiposa del ventricolo destro è stata riscontrata in 5 pazienti (10.87%) della popolazione totale: in 2 pazienti del gruppo con ARVC (50%) e 3 con NDLCV (17.65%).
- L'infiltrazione adiposa del ventricolo sinistro è stata rilevata in 3 pazienti (6.52%) della popolazione totale: in 1 paziente del gruppo con ARVC (25%) e 2 con NDLCV (11.76%).

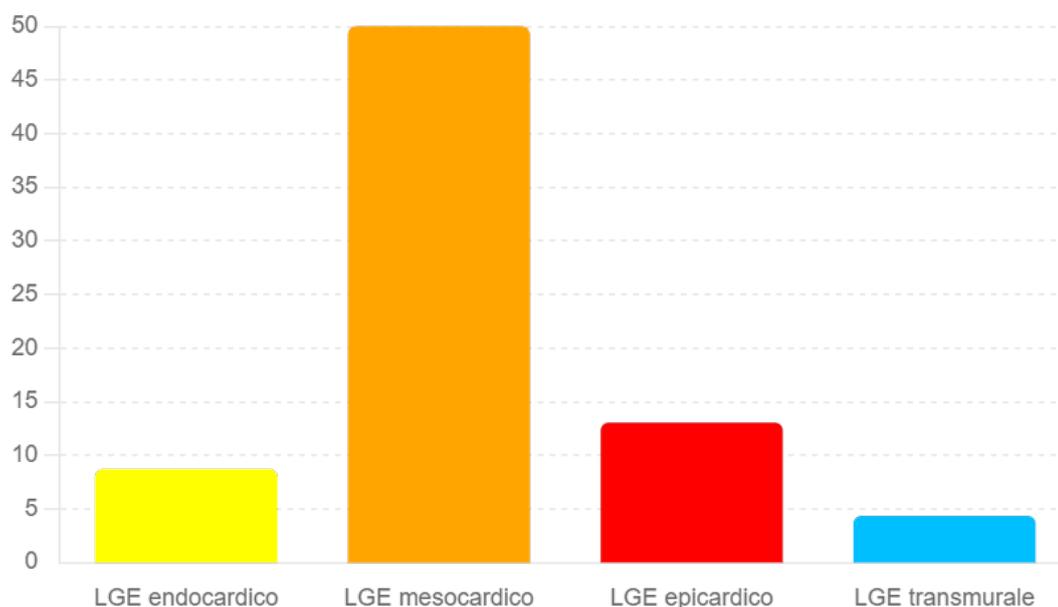


Figura 23 Illustrazione della distribuzione del LGE nella popolazione totale.

#### 4.2 CONFRONTO TRA MUTAZIONI PATOGENE O PROBABILMENTE PATOGENE (CLASSI 4 E 5) E VARIANTI DI SIGNIFICATO INCERTO (VUS, CLASSE 3) DEL GENE *LMNA*

Sulla base della patogenicità della mutazione del gene *LMNA*, la popolazione di studio è stata divisa in due gruppi: pazienti con varianti patogene e probabilmente patogene (gruppo P+LP:27 pazienti, 50%) e pazienti con varianti di significato

incerto (gruppo VUS:27 pazienti, 50%). Al fine di delineare possibili differenze tra i due gruppi, è stata eseguita un'analisi di confronto delle due coorti.

#### 4.2.1 Caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome

Le principali caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome sono riassunte nella tabella V.

Variabile	Popolazione totale n=54	Pazienti con varianti P e LP n=27	Pazienti con VUS n=27	P value
<b>Età alla diagnosi</b>				
-Media(DS)	53.3(15.81)	52.63(13.03)	42.93(19.26)	0.90
-Intervallo	12-76	17-65	12-76	
<b>Sesso maschile</b>	63% (n=34)	52%(n=14)	74%(n=20)	0.2641
<b>Sesso femminile</b>	37% (n=20)	48%(n=13)	26%(n=7)	0.2542
<b>Familiarità per SCD</b>	27.78% (n=15)	26%(n=7)	29.63%(n=8)	1.000
<b>Familiarità per DCM</b>	27.78% (n=15)	26%(n=7)	29.63%(n=8)	1.000
<b>Familiarità per ARVC</b>	22.22% (n=12)	26%(n=7)	18.52%(n=5)	0.745
<b>Motivo della diagnosi</b>				
1. Scopenso	7.4% (n=4)	14.8%(n=4)	0	0.2358
2. Angor	3.7% (n=2)	3.7% (n=1)	3.7% (n=1)	1.000
3. LTA	14.8% (n=8)	11.11%(n=3)	18.52%(n=5)	0.4203
4. Sincope	1.8% (n=1)	0	3.7% (n=1)	1.000
5. Cardiopalmo	16.67% (n=9)	26%(n=7)	7.4%(n=2)	0,1917
6. BEV all'holter	14.8% (n=8)	7.4%(n=2)	22.22%(n=6)	0.788
7. Screening	40.74% (n=22)	37%(n=10)	44.44%(n=12)	0.583
<b>Malato alla I visita</b>	37% (n=20)	48%(n=13)	26%(n=7)	0.158
<b>Fibrillazione atriale</b>	18.52% (n=10)	33.33%(n=9)	3.7% (n=1)	<b>0.0043</b>
<b>Diagnosi di precedente miocardite</b>	14.8% (n=8)	18.52%(n=5)	11.11%(n=3)	0.423
<b>Ablazione nodo AV</b>	11.11% (n=6)	18.52%(n=5)	3.7% (n=1)	0.0511
<b>Sport</b>	38.89% (n=21)	22.22% (n=6)	55.56%(n=15)	<b>0.0103</b>
<b>Biopsia endomiocardica</b>	16.67% (n=9)	29.63%(n=8)	3.7% (n=1)	<b>0.0043</b>
<b>Impianto di ICD</b>	33.33% (n=18)	44.44%(n=12)	22.22%(n=6)	0.1480
-Prevenzione I	44.44% (n=8)	41.67%(n=5)	50%(n=3)	0.1350

-Prevenzione II	55.55% (n=10)	58.3%(n=7)	50%(n=3)	0.7846
<b>Diagnosi criteri 2023</b>				
-DCM	31.5%(n=17)	40.74%(n=11)	22.22%(n=6)	0.2238
-ARVC	7.4%(n=4)	3.7%(n=1)	11.11%(n=3)	0.4906
-NDLC	31.5%(n=17)	37%(n=10)	25.93%(n=7)	0.7664
<b>Diagnosi criteri di Padova</b>				
-ARVC	7.4%(n=4)	3.7%(n=1)	11.11%(n=3)	0.4906
-ALVC	1.85%(n=1)	3.7%(n=1)	0	1.000
-BIV	9.25%(n=5)	14.81%(n=4)	3.7%(n=1)	0.2358
<b>Durata follow-up</b>				
-Media (DS)	3.89 (3.61)	3.91(4.18)	3.95 (3.11)	0.948
-Intervallo	0,25-15	0.25-15	0.8-11	
<b>Aritmie ventricolari Maggiori</b>	27.78% (n=15)	33.33% (n=9)	22.22% (n=6)	0.544
Età media (DS)	48.13 (13.82)	49.3(9.70)	46.3(19.40)	0.6159
<b>Recidiva MVA</b>	46.67% (n=7)	55.56%(n=5)	33.33% (n=2)	0.4203
<b>Scompenso</b>	14.81% (n=8)	29.63%(n=8)	0	<b>0.004</b>
Età media (DS)	48.4 (11.4)	48.4 (11.4)		
<b>Morte cardiaca improvvisa</b>	3.7% (n=2)	0	7.41% (n=2)	0.491
Età media (DS)	24.5 (7.78)		24.5 (7.78)	
<b>Trapianto cardiaco</b>	16.67% (n=9)	33.33% (n=9)	0	<b>0.002</b>
Età media (DS)	47.7 (10.6)	47.7 (10.6)		
<b>Hot phases</b>	5.56% (n=3)	11.11% (n=3)	0	0.236
Età media (DS)	45.67% (3.21)	45.67 (3.21)		

*Tabella V Confronto delle caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome di pazienti con mutazioni patogene o probabilmente patogene (P+LP) e con varianti di incerto significato (VUS) del gene LMNA*

Per le caratteristiche clinico-anamnestiche, le due coorti differivano significativamente per l'anamnesi positiva per fibrillazione atriale, che era più frequente nel gruppo P+LP (P+LP= 9/33.33%, VUS=1/3.7% p=0.0043). Inoltre, la storia di attività sportiva risultava significativamente maggiore nel gruppo VUS (P+LP= 6/22.22%, VUS= 15/55.56%, p=0.0103). Infine, la biopsia endomiocardica è stata più frequentemente eseguita dai pazienti del gruppo P+LP (P+LP= 8/29.63%, VUS=1/3.7%, p=0.0043).

Dal punto di vista dell'outcome, le due coorti differivano per: insorgenza di scompenso (P+LP= 8/29.63%, VUS=0, p=0.004) ed esecuzione di trapianto cardiaco (P+LP= 9/33.33%, VUS=0, p=0.002), entrambi significativamente più frequenti nel gruppo P+LP.

Per quanto riguarda il gruppo P+LP, 26 pazienti (96.3%) presentavano mutazione di tipo missenso ed 1 (3.7%) mutazione di tipo non senso (**Figura 24**). In particolare, tra i pazienti con mutazione missenso, 11 (42.31%) avevano impiantato l'ICD, di questi 5 (45.46%) in prevenzione primaria e 6 (54.55%) in prevenzione secondaria. Il paziente con mutazione non senso aveva l'ICD in prevenzione secondaria. Dal punto di vista dell'outcome tra i pazienti con mutazione di tipo missenso: 8 (30.77%) hanno avuto MVA con un tasso di recidiva del 50% (4 pazienti), 7 (26.9%) sono andati incontro a scompenso ed 8 (30.77%) a trapianto. Il paziente con mutazione non senso è andato incontro a trapianto e poi è deceduto.

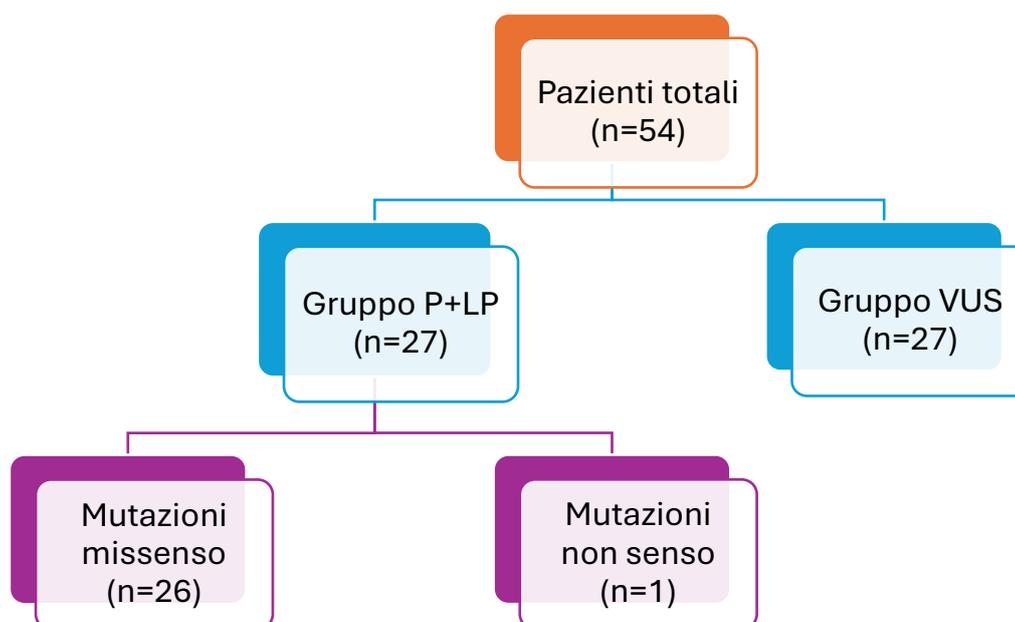


Figura 24 Rappresentazione schematica della popolazione di studio in base al genotipo

#### 4.2.2 Esami strumentali

Tutti i pazienti hanno eseguito ECG ed ecocardiogramma, mentre solo 46 pazienti (85.19%) della popolazione totale sono stati sottoposti a RMC; in particolare 21 pazienti (77.78%) del gruppo P+LP e 25 pazienti (92.6%) del gruppo VUS (**Tabella VI**).

Variabile	Popolazione totale n=54	Pazienti con varianti P e LP n=27	Pazienti con VUS n=27	P value
<b>EGC anormale</b>	72.22% (n=39)	74.07%(n=20)	70.37%(n=19)	1
<b>T neg. V1-V3</b>	11.11% (n=6)	14.81%(n=4)	7.41%(n=2)	0.661
<b>T neg. V4-V6</b>	9.25% (n=5)	14.81%(n=4)	3.7%(n=1)	0.342
<b>T neg. Inferiori</b>	7.4% (n=4)	3.7%(n=1)	11.11%(n=3)	0.342
<b>Onda epsilon</b>	1.85% (n=1)	3.7%(n=1)	0	1
<b>QRS frammentato</b>	3.7% (n=2)	3.7%(n=1)	3.7%(n=1)	1
<b>BBSin</b>	3.7% (n=2)	3.7%(n=1)	3.7%(n=1)	1
<b>BBDx</b>	14.81% (n=8)	22.22%(n=6)	7.4%(n=2)	0.235
<b>Disturbi di conduzione</b>	24.07% (n=13)	18.52%(n=5)	29.63% (n=8)	0.320
<b>Pattern da ripolarizzazione precoce</b>	5.56% (n=3)	0	11.11%(n=3)	1
<b>LQRSV precordiali</b>	11.11% (n=6)	22.22%(n=6)	0	0.661
<b>LQRSV periferiche</b>	25.92% (n=14)	33.33%(n=9)	18.52%(n=5)	0.407
<b>Ritmo da pacemaker</b>	9.26% (n=5)	18.52%(n=5)	0	0.487
<b>FE SX</b>				
-Media (SD)	56.4 (11.1)	52.6 (13.0)	60.2 (7.2)	0.0806
-Intervallo	23-78	23-69	46-78	
<b>FAC</b>				
-Media (SD)	39.6 (6.83)	37.5 (8.3)	41.6 (4.5)	<b>0.0028</b>
-Intervallo	16-57	16-57	34-54	
<b>VTDSX</b>				
-Media (SD)	67.5 (16.1)	72.1 (20.6)	62.9 (7.63)	0.0720
-Intervallo	35-120	35-120	46-79	
<b>ATD</b>				
-Media (SD)	11.6 (3.19)	12.0 (4.20)	11.0 (1.34)	<b>0.0234</b>
-Intervallo	6.00-21	6-21	10-15	
<b>Pazienti sottoposti a CMR</b>	85.19%(n=46)	77.78%(n=21)	92.6%(n=25)	0.250
<b>VTD VDX</b>				
-Media (SD)	95.09 (28.29)	99.3(33.5)	92.0(23.1)	1.000
-Intervallo	45-183	45-183	62-159	
<b>FE VDX</b>				
-Media (SD)	53.2 (13.3)	50.8(16.7)	55.7(8.86)	0.924
-Intervallo	21-74	21-74	31-73	
<b>Alt. Cinetica VDX</b>	39.13 (n=18)	52.38%(n=11)	28%(n=7)	0.0.929
<b>LGE VDX</b>	23.91% (n=11)	23.81%(n=5)	24%(n=6)	1.000
<b>VTD SX</b>				
-Media (SD)	99.5 (46.8)	107.0(62.2)	93.6(28.6)	1.000
-Intervallo	51-337	65-337	51-209	
<b>FE SX</b>				
-Media (SD)	53.8 (12.5)	48.1(16.1)	58.1(6.4)	0.722
-Intervallo	21-73	21-70	42-73	
<b>Alt. Cinetica VSn</b>	47.82% (n=22)	61.9%(n=13)	36%(n=9)	0.1007

<b>LGE Vsin</b>	67.39% (n=31)	80.95%(n=17)	56%(n=14)	0.1480
<b>N. segmenti LGE</b>				
-Media (SD)	2.06 (2.15)	2.7(2.43)	0.96(1.11)	0.917
-Intervallo	0-10	0-10	0-3	
<b>LGE&gt;3 segmenti</b>	26.1% (n=12)	38.1%(n=8)	16%(n=4)	0.1189
<b>LGE&gt;2 segmenti</b>	50% (n=23)	66.67%(n=14)	36%(n=9)	<b>0.0285</b>
<b>LGE endocardico</b>	8.7% (n=4)	9.52%(n=2)	8%(n=2)	1.000
<b>LGE mesocardico</b>	50% (n=23)	66.67%(n=14)	36%(n=9)	<b>0.0285</b>
<b>LGE epicardico</b>	13% (n=6)	9.52%(n=2)	16%(n=4)	0.669
<b>LGE trasmurale</b>	4.35% (n=2)	9.52%(n=2)	0	0.491
<b>Infiltrazione adip. Vdx</b>	10.87% (n=5)	19.05%(n=4)	4%(n=1)	0.1917
<b>Infiltrazione adip. Vsin</b>	6.52% (n=3)	9.52%(n=2)	4%(n=1)	1.000

*Tabella VI Confronto degli esami strumentali (ecg, eco, CMR) dei pazienti con mutazioni patogene o probabilmente patogene (P+LP) e con varianti di incerto significato (VUS) del gene LMNA*

All'analisi elettrocardiografica non sono emerse differenze significative tra i due gruppi. All'ecocardiografia sono state rilevate differenze significative per la frazione d'accorciamento (FAC) ( $p=0.0028$ ) e l'area telediastolica (ATD) del ventricolo destro ( $p=0.0234$ ). La FAC risultava inferiore nei pazienti del gruppo P+LP con valore medio di 37.5 ( $\pm 8.3$ )% rispetto ai pazienti del gruppo VUS, che presentavano valore medio di 41.6 ( $\pm 4.5$ )%. Inoltre, l'area telediastolica del ventricolo destro era significativamente maggiore nel gruppo P+LP, in cui il valore medio era di 12.00 ( $\pm 4.20$ ) cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>, rispetto al gruppo VUS, in cui valore medio era di 11.0 ( $\pm 1.34$ ) cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>.

Infine, dall'analisi di risonanza magnetica cardiaca è emerso un maggior burden aritmico nei pazienti del gruppo P+LP, evidenziato da una maggiore frequenza di LGE mesocardico (P+LP=14/66.67%, VUS= 9/36%,  $p=0.0285$ ) e della presenza di LGE in più di due segmenti (P+LP=14/66.67%, VUS= 9/36%,  $p=0.0285$ ).

### 4.3 ANALISI DI REGRESSIONE

All'interno della popolazione totale di pazienti, considerando sia il gruppo P+LP che il gruppo VUS, è stata poi eseguita un'analisi di regressione logistica univariata, al fine di ricercare possibili predittori di outcome (**Tabella VII, Figura 25**). È stato utilizzato come outcome il composito di aritmie ventricolari maligne-scompenso e trapianto cardiaco.

Variabile	p-value	OR	CI inferiore	CI superiore
<b>C.D.</b>	0.696	0.767	0.202	2.904
<b>BBS</b>	0.06	8.25	0.85	79
<b>Fibrillazione atriale</b>	<b>0.006</b>	10.667	1.977	57.551
<b>Ritmo da pacemaker</b>	0.069	8.25	0.851	79.95
<b>VTDi_VDX</b>	<b>0.016</b>	1.034	1.006	1.062
<b>VTDi_SX</b>	0.115	1.017	0.996	1.038
<b>FE_SX</b>	<b>0.002</b>	0.871	0.798	0.952
<b>FE_DX</b>	<b>0.003</b>	0.88	0.817	0.961

*Tabella VII Risultati dell'analisi di regressione univariata*

Tra i fattori anamnestici è stata evidenziata una correlazione con la fibrillazione atriale (OR=10.667, CI 1.977-57.551, p=0.006).

Dal punto di vista delle caratteristiche elettrocardiografiche è risultato un possibile predittore di rischio la presenza di blocco di branca sinistra (OR 8.25, CI 0.85-79), con un p-value prossimo alla significatività, verosimilmente per la limitata numerosità campionaria (p=0.06). Analogamente anche il ritmo da pacemaker (OR=8.25, CI 0.851-79.95, p=0.069), indicativo della presenza di un importante disturbo di conduzione, si avvicinava alla significatività, pur non raggiungendola per limitato numero di pazienti. Invece, la presenza di disturbi di conduzione (OR=0.767, CI 0.202-2.904, p=0.696), che includono anche anomalie più lievi, non risultava significativa.

Per quanto riguarda le caratteristiche di RMC per il ventricolo sinistro è risultata significativa l'associazione con la frazione d'eiezione (OR=0.871, CI 0.798-0.952, p=0.002). Invece, per il ventricolo destro sono risultati significativi sia la frazione d'eiezione destra (OR=0.88 CI 0.817-0.961, p=0.003), che il volume telediastolico del ventricolo destro (OR= 1.034, CI 1.006-1.062, p=0.016).

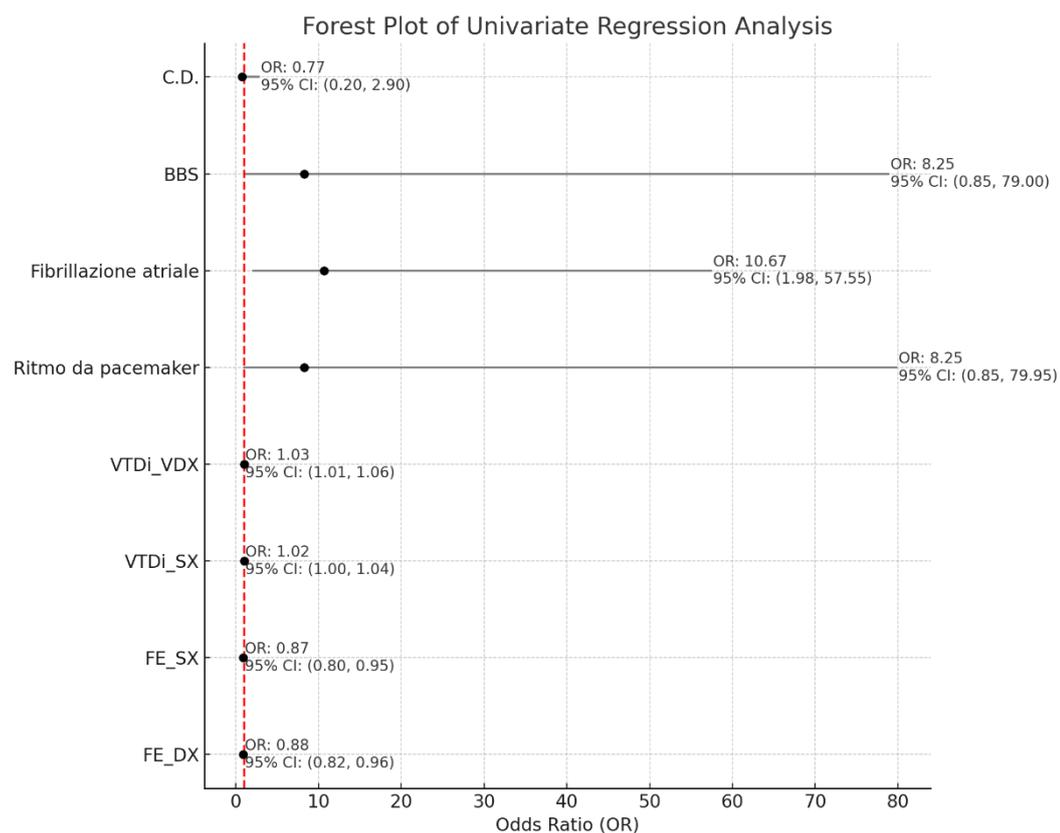


Figura 25 Forrest-plot che illustra i risultati dell'analisi di regressione univariata

#### 4.4 CONFRONTO TRA MUTAZIONI DI CLASSE 4 E 5 DEL GENE *LMNA* E MUTAZIONI DI CLASSE 4 E 5 DEL GENE *DSP*

Infine, la coorte di 27 pazienti con varianti patogene di classe 4 e 5 del gene *LMNA* (gruppo *lmna*) è stata confrontata con una coorte di 48 pazienti con cardiomiopatia aritmogena left dominant con mutazioni di classe 4 e 5 del gene desmoplachina (gruppo *dsp*).

##### 4.4.1 Caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome

Il confronto dei principali dati clinici e di follow-up dei gruppi è riportato nella tabella VIII.

Variabile	Pazienti totali n=75	Pazienti con mutazione del gene <i>LMNA</i> n=27	Pazienti con mutazione del gene <i>DSP</i> n=48	p-value
<b>Età alla diagnosi</b>				
-Media (DS)	36.88 (14.82)	52.63(13.03)	34.33 (14.90)	<b>&lt;0.001</b>
-Intervallo	12-65	17-65	12-63	
<b>Sesso maschile</b>	50.67% (n=38)	52% (n=14)	50% (n=24)	1
<b>Sesso femminile</b>	49.33% (n=37)	48% (n=13)	50% (n=24)	1

<b>Familiarità per SCD</b>	30.67% (n=23)	26% (n=7)	33.33% (n=16)	0.68
<b>Familiarità per DCM</b>	18.67% (n=14)	26% (n=7)	14.58% (n=7)	0.36
<b>Familiarità per ARVC</b>	52% (n=39)	26% (n=7)	66.67% (n=32)	0.002
<b>Malato alla I visita</b>	57.33% (n=43)	48%(n=13)	62.5% (n=30)	0.33
<b>Fibrillazione atriale</b>	12% (n=9)	33.33%(n=9)	0	<b>&lt;0.001</b>
<b>Diagnosi di precedente miocardite</b>	14.67% (n=11)	18.52%(n=5)	12.5% (n=6)	0.71
<b>Ablazione nodo AV</b>	6.67% (n=5)	18.52%(n=5)	0	<b>0.009</b>
<b>Sport</b>	20% (n=15)	22.22% (n=6)	18.75% (n=9)	0.9
<b>Biopsia endomiocardica</b>	22.67% (n=17)	29.63%(n=8)	18.75% (n=9)	0.42
<b>Impianto di ICD</b>	40% (n=30)	44.44%(n=12)	37.5% (n=18)	0.55
-Prevenzione I	53.33% (n=16)	41.67%(n=5)	61.11% (n=11)	0.73
-Prevenzione II	46.67%(n=14)	58.3%(n=7)	38.89% (n=7)	0.87
<b>ICD impiantato prima della I visita</b>	16% (n=12)	22.22%(n=6)	12.5% (n=6)	0.43
<b>Diagnosi criteri 2023</b>				
-DCM	33.33% (n=25)	40.74%(n=11)	29.16% (n=14)	0.44
-ARVC	1.33% (n=1)	3.7%(n=1)	0	0.76
-NDLC	57.33% (n=43)	37%(n=10)	68.75% (n=33)	0.01
<b>Probandi</b>	49.33% (n=37)	66.67% (n=18)	39.58% (n=19)	<b>0.04</b>
<b>Durata follow-up</b>				
-Media (DS)	6.08 (6.05)	3.91(4.18)	1.58(7.15)	<b>0.04</b>
-Intervallo	0.25-31	0.25-15	0.25-31	
<b>Aritmie ventricolari Maggiori</b>	24% (n=18)	33.33% (n=9)	18.75% (n=9)	0.25
Età media (DS)	47.41 (12.66)	49.3(9.70)	45.25 (15.78)	
<b>Recidiva MVA</b>	9.33% (n=7)	18.52 %(n=5)	4.16% (n=2)	0.10
<b>Scompenso</b>	14.67% (n=11)	29.63%(n=8)	6.25% (n=3)	<b>0.01</b>
Età media (DS)	47.45 (15.04)	48.4 (11.4)	45.00 (25.71)	
<b>Morte</b>	2.67% (n=2)	3.7%(n=1)	2.08% (n=1)	1
Età media (DS)	74.0 (4.90)			
<b>Morte cardiaca improvvisa</b>	4% (n=3)	0	6.25% (n=3)	0.47
Età media (DS)	25.67 (5.86)		25.67 (5.86)	
<b>Trapianto cardiaco</b>	12% (n=9)	33.33% (n=9)	0	<b>&lt;0.001</b>
Età media (DS)	47.7 (10.6)	47.7 (10.6)		
<b>Hot phases</b>	16% (n=12)	11.11% (n=3)	18.75% (n=9)	0.59

Età media (DS)	31.90 (14.05)	45.67 (3.21)	28.63 (13.78)
----------------	---------------	--------------	---------------

Tabella VIII Confronto delle caratteristiche clinico-anamnestiche e di outcome dei pazienti con mutazioni di CLASSE 4 e 5 del gene LMNA e dei pazienti con mutazioni di CLASSE 4 e 5 del gene DSP

Le due coorti presentavano età alla diagnosi significativamente diverse ( $p < 0.001$ ), con età superiore nei pazienti con mutazione *LMNA*. Infatti, i pazienti con tale mutazione avevano età media alla diagnosi di 52.63 ( $\pm 13.03$ ) anni, con intervallo compreso tra 17 e 65 anni; invece, i pazienti del gruppo *dsp* avevano un'età media alla diagnosi di 34.33 ( $\pm 14.90$ ) anni, con intervallo compreso tra 12 e 63 anni. Inoltre, nei pazienti del gruppo *lmna* è stato riscontrato un numero significativamente maggiore di probandi (*lmna*=18/66.67%, *dsp*=19/39.58%,  $p=0.04$ ) e più frequentemente anamnesi positiva per fibrillazione atriale (*lmna*=9/33.33%, *dsp*=0,  $p < 0.001$ ) e per ablazione del nodo AV (*lmna*=5/18.52%, *dsp*=0,  $p=0.009$ ).

Ulteriori differenze significative sono state rilevate per l'incidenza di scompenso ( $p=0.01$ ) e la necessità di trapianto cardiaco ( $p < 0.001$ ). In particolare, 8 pazienti (29.63%) del gruppo *lmna* sono andati incontro a scompenso ad un'età media di 48.4 ( $\pm 11.4$ ) anni e solamente 3 pazienti (6.25%) del gruppo *dsp* ad un'età media di 45.00 ( $\pm 25.71$ ) anni. Inoltre, 9 pazienti (33.33%) del gruppo *lmna* hanno eseguito un trapianto cardiaco ad un'età media di 47.7 ( $\pm 10.6$ ) anni a fronte di nessun paziente del gruppo *dsp*.

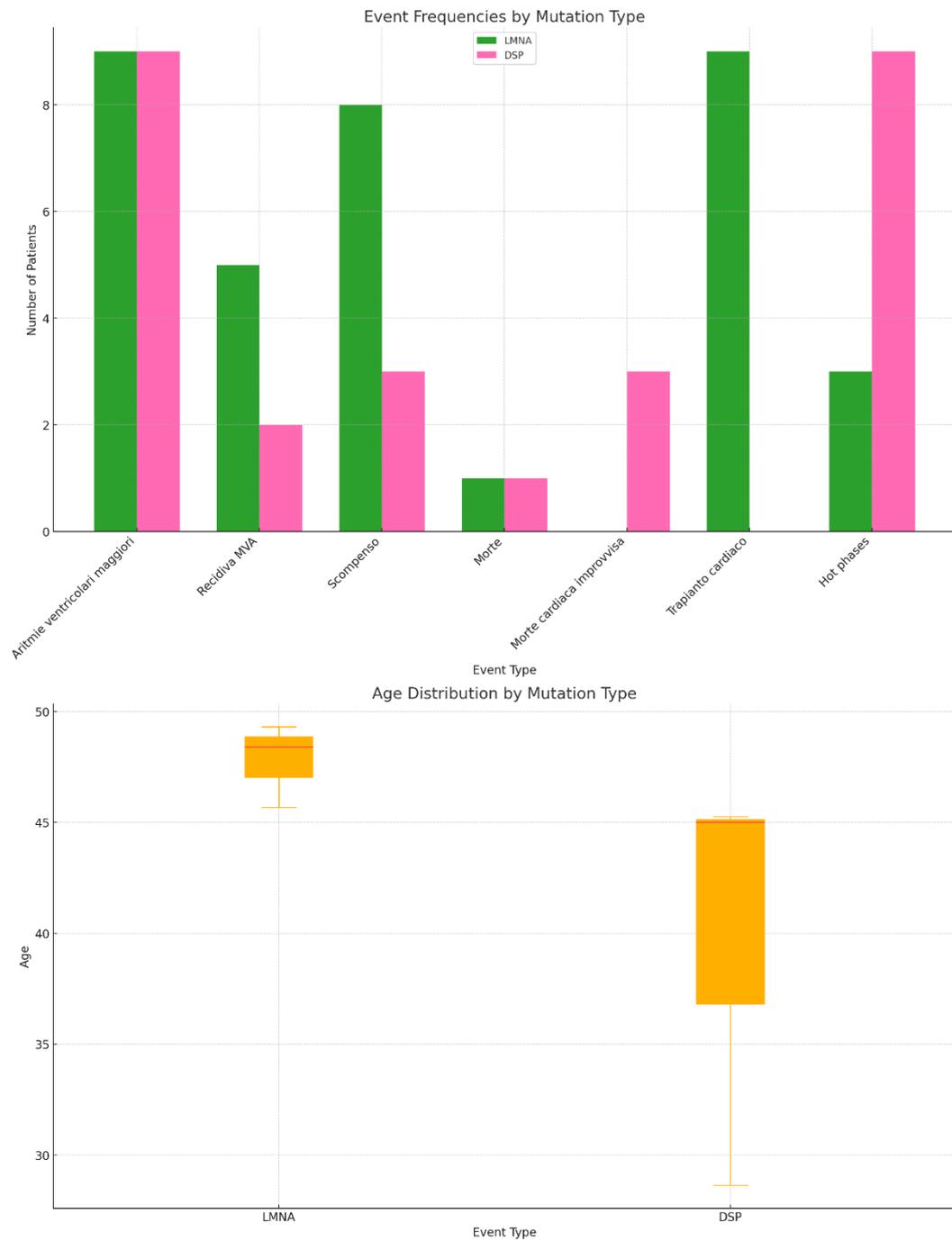


Figura 26 Istogramma che confronta la frequenza di eventi per il gruppo LMNA e DSP, box-plot che confronta età medie eventi nei due gruppi.

#### 4.4.2 Esami strumentali

Nella tabella IX è riportato il confronto dei risultati dei principali esami strumentali.

Variabile	Pazienti totali n=75	Pazienti con mutazione del gene <i>LMNA</i> n=27	Pazienti con mutazione del gene <i>DSP</i> n=48	P value
<b>EGC anormale</b>	68% (n=51)	74.07% (n=20)	64.58%(n=31)	0.55
<b>T neg. V1-V3</b>	50.67% (n=38)	14.81 %(n=4)	70.83%(n=34)	<b>&lt;0.001</b>
<b>T neg. V4-V6</b>	8% (n=6)	14.81%(n=4)	4.16% (n=2)	0.23
<b>T neg. Inferiori</b>	13.33% (n=10)	3.70%(n=1)	18.75% (n=9)	0.13
<b>Onda epsilon</b>	8% (n=6)	3.70 %(n=1)	10.42% (n=5)	0.55
<b>QRS frammentato</b>	1.33% (n=1)	3.70 %(n=1)	0	0.76
<b>BBSin</b>	4% (n=3)	3.70 %(n=1)	4.16% (n=2)	1
<b>BBDx</b>	8% (n=6)	22.22%(n=6)	0	<b>0.003</b>
<b>Disturbi di conduzione</b>	8% (n=6)	18.51 %(n=5)	2.08% (n=1)	<b>0.038</b>
<b>Pattern da ripolarizzazione precoce</b>	10.67% (n=8)	0	16.67% (n=8)	0.06
<b>LQRSV precordiali</b>	8% (n=6)	22.22%(n=6)	0	<b>0.003</b>
<b>LQRSV periferiche</b>	20% (n=15)	33.33%(n=9)	12.5% (n=6)	0.06
<b>Ritmo da pacemaker</b>	40% (n=30)	18.51%(n=5)	52.08%(n=25)	<b>0.009</b>
<b>FE SX</b>				
-Media (SD)	53.13 (10.81)	52.6 (13.0)	53.51 (8.92)	0.43
-Intervallo	23-74	23-69	30-74	
<b>FAC</b>				
-Media (SD)	41.07 (9.48)	37.5 (8.3)	43.79 (9.53)	<b>0.04</b>
-Intervallo	16-67	16-57	29-67	
<b>VTDSX</b>				
-Media (SD)	69.34 (17.48)	72.1 (20.6)	67.12 (14.53)	<b>0.04</b>
-Intervallo	35-120	35-120	43-100	
<b>ATD</b>				
-Media (SD)	11.66 (3.33)	12.0 (4.20)	11.36 (2.61)	0.08
-Intervallo	6-21	6-21	8-16.27	
<b>Pazienti sottoposti a CMR</b>	86.67% (n=65)	77.78%(n=21)	91.67%(n=44)	0.17
<b>VTD VDX</b>				
-Media (SD)	84.70 (23.52)	99.3(33.5)	78.07 (13.06)	<b>&lt;0.001</b>
-Intervallo	45-183	45-183	56-110	
<b>FE VDX</b>				
-Media (SD)	57.68 (12.07)	50.8(16.7)	60.34 (7.36)	0.25
-Intervallo	21-75	21-74	48-75	
<b>Alt. Cinetica VDX</b>	38.46% (n=25)	52.38%(n=11)	31.82%(n=14)	0.15
<b>LGE VDX</b>	16.92% (n=11)	23.81%(n=5)	13.63% (n=6)	0.32
<b>VTD SX</b>				
-Media (SD)	97.91 (38.79)	107.0(62.2)	93.98 (21.04)	<b>0.02</b>
-Intervallo	54-337	65-337	54-138	
<b>FE SX</b>				
-Media (SD)	51.13 (11.72)	48.1(16.1)	52.43 (9.14)	0.95
-Intervallo	21-74	21-70	33-74	
<b>Alt. Cinetica VSn</b>	58.46% (n=38)	61.9%(n=13)	56.82%(n=25)	0.81

<b>LGE Vsin</b>	93.85% (n=61)	80.95%(n=17)	100% (n=44)	0.2345
<b>N. segmenti LGE</b>				
-Media (SD)	5.81 (3.25)	2.7(2.43)	6.90 (2.95)	<0.001
- Intervallo	1-12	1-10	1-12	
<b>LGE&gt;3 segmenti</b>	78.46% (n=51)	38.1%(n=8)	97.73%(n=43)	<0.001
<b>LGE&gt;2 segmenti</b>	87.69% (n=57)	66.67%(n=14)	97.73%(n=43)	<0.001
<b>Infiltrazione adip. Vdx</b>	7.69% (n=5)	19.05%(n=4)	2.27% (n=1)	<0.05
<b>Infiltrazione adip. Vsin</b>	24.62%(n=16)	9.52%(n=2)	31.82%(n=14)	0.0387

Tabella IX Confronto degli esami strumentali (ecg, eco, CMR) di pazienti con mutazioni di CLASSE 4 e 5 del gene LMNA e dei pazienti con mutazioni di CLASSE 4 e 5 del gene DSP

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad elettrocardiogramma ed ecocardiogramma. Dal punto di vista delle caratteristiche elettrocardiografiche, i disturbi di conduzione ( $lmna= 5/18.51\%$ ,  $dsp= 1/2.08\%$ ,  $p=0.038$ ), il blocco di branca destra ( $lmna=6/22.22\%$ ,  $dsp=0$ ,  $p=0.003$ ) ed i bassi voltaggi nelle derivazioni precordiali ( $lmna= 6/22.22\%$ ,  $dsp=0$ ,  $p=0.003$ ) sono risultati significativamente più frequenti nella coorte *lmna*. Invece, nel gruppo *dsp* erano significativamente più frequenti le T negative invertite nelle derivazioni V1-V3 ( $lmna=4/14.81\%$ ,  $dsp= 34/70.83\%$ ,  $p<0.001$ ) ed il ritmo da pacemaker ( $lmna=5/18.51\%$ ,  $dsp=25/52.08\%$ ,  $p=0.009$ ).

Per quanto riguarda le caratteristiche ecocardiografiche, differenze significative sono state rilevate per la frazione d'accorciamento ( $p=0.04$ ) e il volume telediastolico medio del ventricolo sinistro ( $p=0.04$ ). In particolare, la FAC media nel gruppo *lmna* era di  $37.5 (\pm 8.3)\%$  e nel gruppo *dsp*  $43.79 (\pm 9.53)\%$ . Invece, il VTDSX risultava superiore nei pazienti del gruppo *lmna* con una media di  $72.1 (\pm 20.6)$  ml/m<sup>2</sup>, rispetto al gruppo *dsp* in cui il volume medio era di  $67.12 (\pm 14.53)$  ml/m<sup>2</sup>.

Tra i pazienti che sono stati sottoposti a RMC i volumi ventricolari telediastolici medi destro e sinistro sono risultati significativamente maggiori nel gruppo *lmna*, con valori medi di  $99.3 (\pm 33.5)$  ml/m<sup>2</sup> per il destro e  $107 (\pm 62.2)$  ml/m<sup>2</sup> per il sinistro a fronte di valori medi nel gruppo *dsp* di  $78.07 (\pm 13.06)$  ml/m<sup>2</sup> a destra e  $93.98 (\pm 21.04)$  ml/m<sup>2</sup> a sinistra. Inoltre, nel gruppo *lmna* è risultata maggiore l'infiltrazione adiposa del ventricolo destro ( $lmna=4/19.05\%$ ,  $dsp=1/2.27\%$ ,  $p<0.05$ ). Invece, nel gruppo *dsp* è risultata significativamente maggiore la media del numero di segmenti cardiaci con LGE ( $p<0.001$ ) con valore medio di  $6.90 (\pm 2.95)$  ed intervallo compreso tra 1 e 12 segmenti, rispetto al gruppo *lmna* in cui il

valore medio era di  $2.7(\pm 2.43)$  con un intervallo tra 1 e 10 segmenti. Infine, nel gruppo *dsp* risultavano più frequenti la presenza di LGE in più di 3 segmenti ( $lmna=8/38.1\%$ ,  $dsp=43/97.73\%$ ,  $p<0.001$ ) ed in più di 2 segmenti ( $lmna=14/66.67\%$ ,  $dsp=43/97.73\%$ ,  $p<0.001$ ).

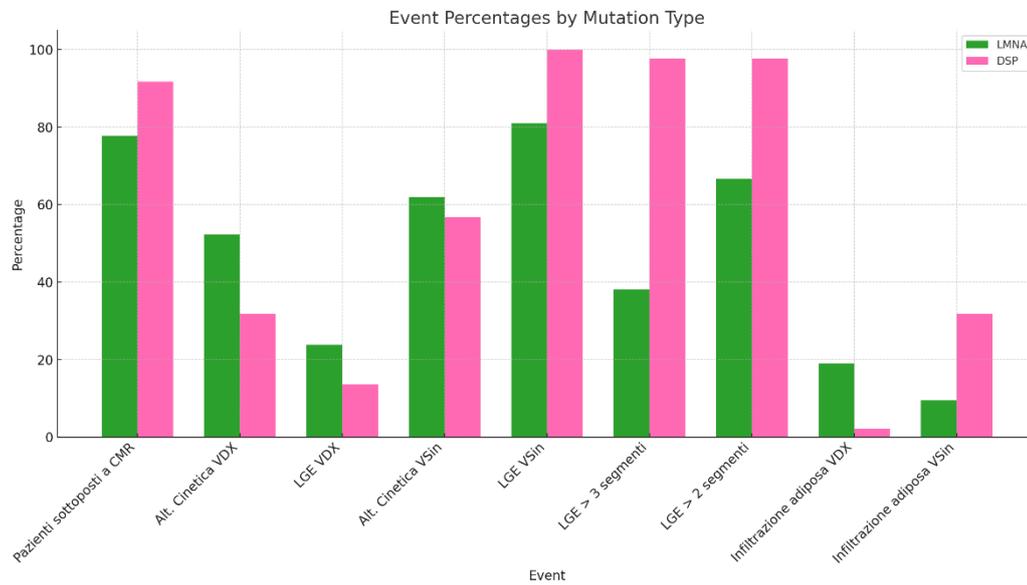


Figura 27 Confronto risultati RMC tra gruppi LMNA e DSP

## 5. DISCUSSIONE

Le mutazioni del gene *LMNA* causano le laminopatie, un gruppo di disturbi associati a un ampio spettro di fenotipi clinicamente distinti, che interessano diversi organi e tessuti, tra cui frequentemente il cuore (1). Le cardiolaminopatie sono eterogenee e complesse e si caratterizzano per la peculiare coesistenza di anomalie strutturali ed instabilità elettrica (15). Ciò determina la frequente comparsa di: cardiomiopatia dilatativa progressiva, disturbi di conduzione atrioventricolare e tachiaritmie sia atriali che ventricolari, con conseguenti alto rischio di morte cardiaca improvvisa e scompenso cardiaco severo con frequente necessità di trapianto, sebbene la frazione d'eiezione sia conservata o solo moderatamente ridotta (5,6). Si caratterizzano per alta penetranza, esordio giovanile, decorso rapido e progressivo e prognosi infausta (21,51,54,110,115). Ad oggi, nonostante i recenti sviluppi clinici e molecolari, molti aspetti risultano ancora poco chiari, in particolare la correlazione tra specifiche mutazioni e le diverse manifestazioni cliniche. Infatti, il fenotipo, la gravità e la progressione della malattia mostrano una marcata variabilità interindividuale, anche tra i membri di uno stesso nucleo familiare.

L'obiettivo principale del presente studio è la caratterizzazione clinico-strumentale di pazienti con mutazioni del gene *LMNA*. A tal fine sono stati analizzati i diversi fenotipi osservati e confrontati i pazienti con varianti patogene o probabilmente patogene (CLASSE 4 e 5) e pazienti con varianti di incerto significato (CLASSE 3) del gene *LMNA*. Inoltre, sono stati ricercati eventuali predittori di outcome. Infine, le caratteristiche clinico-strumentali dei pazienti con mutazioni di classe 4 e 5 del gene *LMNA* sono state confrontate con quelle dei pazienti con cardiomiopatia aritmogena left dominant da mutazioni della desmoplachina (*DSP*) di classe 4 e 5.

### 5.1 CARATTERISTICHE CLINICO-STRUMENTALI DEI PAZIENTI CON MUTAZIONE DEL GENE *LMNA*

La popolazione di studio con mutazioni del gene *LMNA* (54 pazienti), è stata suddivisa in base al fenotipo in: DCM (31.5%), ARVC (7.5%), NDLVC (31.5%) e pazienti che non rientrano nei criteri diagnostici (29.5%). In accordo con la letteratura è stata riscontrata un'elevata prevalenza di DCM, infatti il gene *LMNA* rappresenta la seconda variante più frequentemente riscontrata in caso di DCM familiare (17,18, 109). Come osservato da alcuni studi (27–29,59), le varianti del

gene *LMNA* rappresentano una possibile causa di ARVC. Inoltre, secondo la nuova classificazione ESC molti pazienti rientravano nella nuova variante fenotipica di NDLVC, di cui vari aspetti, tra cui quelli genetici, devono ancora essere chiariti (109). A conferma della complessità ed eterogeneità delle manifestazioni cliniche, si sottolinea la presenza di pazienti, che pur presentando manifestazioni clinico-strumentali, non possono essere classificati nei fenotipi definiti dalle ultime linee guida (109).

L'età media alla diagnosi, 53.3 ( $\pm 15.81$ ) anni nella popolazione totale, era superiore all'età media di esordio della malattia, che abitualmente si attesta nella II-III decade di vita, con penetranza completa a 60-70 anni (6,21,51,112). Ciò potrebbe essere dovuto ad un ritardo diagnostico o alla presenza di varianti con decorso più lento nel nostro campione.

Il sesso maschile risultava più frequentemente colpito in caso di DCM (65%), NDLVC (53%) e nei pazienti che non rientravano nei criteri diagnostici (75%); invece non si rilevava differenza tra i due sessi nei pazienti con ARVC (50%). Inoltre, nella nostra casistica, il sesso femminile presentava una progressione più lenta, con il 35% delle pazienti che si è ammalata nel follow-up, rispetto al 26.47% dei soggetti maschi. In letteratura i dati riguardanti il sesso sono discordanti, l'incidenza nei due sessi è simile, ma il sesso maschile è classicamente considerato come un fattore di rischio per insorgenza precoce e prognosi infausta (22,53,54).

I principali motivi della diagnosi nella popolazione totale erano lo screening familiare (40.7%), sottolineando l'importanza dello screening a cascata dei familiari (109), e la presenza di LTA, confermando come l'insorgenza di anomalie elettriche preceda la disfunzione meccanica (15). Infatti, le aritmie spesso anticipano di decenni l'insorgenza della cardiomiopatia (36,112).

L'anamnesi positiva per fibrillazione atriale è stata riscontrata nel 18.05% della popolazione totale, con maggiore frequenza nel sottogruppo di pazienti con DCM (41.17%), confermando l'alta incidenza di FA nei pazienti con cardiolaminopatia osservata in letteratura (126,127,130) e sostenendo la recente definizione di atriopatia *LMNA*-correlata (129,135). L'ablazione del nodo atrioventricolare è stata eseguita dall'11.11% della popolazione totale, avvalorando l'ipotesi che il nodo atrioventricolare sia una delle sedi preferenzialmente colpite nei pazienti con cardiolaminopatia (120,123). L'ICD è stato impiantato nel 33.33% della popolazione totale ed in particolare nel 58.8% dei pazienti con DCM, sottolineando

l'elevato burden aritmico dei pazienti con mutazione del gene *LMNA*, che presentano un'incidenza annua di SCD pari al 5-10% (51,54,109,124). Dal punto di vista elettrocardiografico, sono state rilevate anomalie nel 72.22% della popolazione in esame. In particolare, i disturbi di conduzione sono stati riscontrati nel 24.07% dei casi e rappresentavano l'alterazione più frequente, confermandosi come caratteristica tipica dei pazienti con cardiolaminopatia(104,120,121).

Dall'analisi della RMC è stato evidenziato un importante coinvolgimento del ventricolo sinistro, con presenza di LGE nel 67.39% della popolazione totale ed alterazioni della cinetica ventricolare sinistra nel 92.86% dei pazienti con DCM, in accordo con la letteratura (104,113). In particolare, come già descritto da altri, LGE era localizzato a livello mesocardico nel 50% della popolazione di studio (113,133), a livello transmurale nel 4.34% (137), ed a livello epicardico nel 13.04% (165). Inoltre, nel nostro campione è stato rilevato LGE anche a livello endocardico nel 8.7% della popolazione totale, in particolare nel 14.29% del gruppo con DCM e nel 11.76% di quello con NDLCV. Tipicamente la DCM presenta alla RMC un pattern LGE di tipo non ischemico (intramiocardico, subepicardico) nel 35-40% dei casi (166,167), tuttavia sono riportati in letteratura anche coesistenza di pattern LGE ischemico e non ischemico e la sola presenza di pattern ischemico (transmurale, subendocardico) nel 13% dei casi (166,168,169). De Angelis et al. (170) hanno rilevato che il pattern LGE di tipo subendocardico è frequentemente riscontrato in pazienti con DCM non ischemica e si associa all'outcome composto di morte per tutte le cause, in quanto determina l'aumento del burden aritmico. I substrati aritmici nella cardiomiopatia ischemica e non ischemica sono diversi: nella cardiomiopatia ischemica le aritmie tipicamente insorgono da circuiti di rientro originati da cicatrici endocardiche. Invece, la DCM si caratterizza per substrati più eterogenei, quali infiammazione, fibrosi interstiziale e cicatrici (171). Tuttavia, in alcuni studi elettrofisiologici (172), in pazienti con DCM aree limitate di endocardio con basso potenziale sono state associate alla comparsa di tachicardia ventricolare monomorfa, suggerendo che la presenza di LGE subendocardico possa contribuire all'aritmogenesi. Pertanto, ciò potrebbe rappresentare un possibile ulteriore substrato per l'elevato burden aritmico osservato nei pazienti con *LMNA* e la variabilità fenotipica potrebbe essere ricondotta al diverso pattern LGE.

Infine, dall'analisi del follow-up della nostra coorte, si conferma la prognosi infausta delle cardiolaminopatie, con un'alta incidenza di aritmie ventricolari maligne, scompenso cardiaco, necessità di trapianto e morte (6,51,54,110,115). In particolare, è emerso che il sesso femminile è andato più frequentemente incontro a scompenso (25%) e trapianto (30%), invece il sesso maschile presentava maggior burden aritmico, con maggior tasso di MVA (35.29%), recidiva di MVA (50%) e SCD (5.88%). Inoltre, nel 55% dei soggetti di sesso femminile la terapia è stata necessaria già alla prima visita, a fronte del 41.17% dei pazienti di sesso maschile. Pertanto, da un lato si conferma la peggiore prognosi nei pazienti di sesso maschile, classicamente considerato un fattore di rischio (22,54,55) al punto da essere uno dei parametri dello score di Wahbi et al. (53); dall'altro si evidenzia come anche nel sesso femminile la prognosi possa risultare severa, con maggior incidenza di scompenso e trapianto. Recentemente Barriales-Villa et al. (24) hanno sottolineato come il sesso femminile presenti lo stesso rischio di MACE del sesso maschile. Inoltre, Nishiuchi et al. (23) non hanno osservato differenze significative per la riduzione della FE e l'insorgenza di MVA tra i due sessi. Tale diversità potrebbe essere dovuta al differente background genetico delle popolazioni osservate nei diversi studi; pertanto sono necessari studi di confronto tra i due sessi con lo stesso tipo di mutazione.

## **5.2 CONFRONTO TRA MUTAZIONI PATOGENE O PROBABILMENTE PATOGENE (CLASSI 4 E 5) E VARIANTI DI SIGNIFICATO INCERTO (VUS) DEL GENE *LMNA***

Come si evince dai risultati, dal confronto tra i pazienti con mutazioni patogene o probabilmente patogene (Classi 4 e 5) e con varianti di incerto significato (VUS, Classe 3) del gene *LMNA*, sono emerse principalmente differenze significative legate all'outcome, con prognosi peggiore per le varianti di classe 4/5, ma poche differenze sul piano clinico-strumentale (173–175). Comprendere il significato delle VUS costituisce un attuale problema clinico, data la crescente disponibilità di test genetici sempre più fini, che analizzano pannelli sempre più ampi (176). Infatti, nonostante molte varianti non possano essere classificate secondo gli attuali criteri o siano definite come VUS, non vuol dire che non abbiano alcun impatto clinico (177,178). Lazarte et al. (58) hanno osservato che rare mutazioni missenso o LOF del gene *LMNA*, classificate come non patogene, determinano un aumentato rischio di cardiomiopatia ed aritmie, soprattutto fibrillazione atriale. Inoltre, hanno rilevato

come la localizzazione della variante influenzi il rischio di sviluppare cardiopatia, confermando un maggiore rischio per le mutazioni a monte del NLS (42,43,54). Anche nello studio di Pessente et al. sono state osservate nei pazienti con VUS del gene *LMNA* manifestazioni cardiache, principalmente di tipo aritmico (179).

Inoltre, dall'analisi del tipo di variante patogena o probabilmente patogena è emerso che il 3.7% dei pazienti presentava varianti di tipo non senso ed il 96.3% mutazioni di tipo missenso. La letteratura mostra una prognosi infausta per le mutazioni di tipo non senso (53–55); nella nostra coorte l'unico paziente con mutazione non senso aveva ricevuto impianto di ICD in prevenzione secondaria ed è andato incontro a trapianto cardiaco. Al contrario, riguardo le mutazioni di tipo missenso, descritte classicamente in letteratura come a prognosi favorevole ed a minor rischio aritmico (53–55), dai nostri dati si evince che non sempre sono benigne e con prognosi favorevole, avvalorando quanto recentemente sostenuto da Barriaes-Villa et al. e Captur et al. (24,42). Infatti, dei pazienti con mutazione missenso, 11 (42.31%) avevano impiantato l'ICD, dei quali 6 (54.55%) in prevenzione secondaria, 8 (30.77%) avevano avuto MVA con un tasso di recidiva del 50% (4 pazienti), 7 (26.9%) sono andati incontro a scompenso e 8 (30.77%) a trapianto. In particolare, anche nella nostra coorte erano presenti varianti missenso p.Arg190Trp in 3 pazienti (11.5%) e p.Glu161Lys in un paziente (3.8%); tali varianti sono state descritte da Capture et al. come associate a fenotipi avversi (42). Ciò sottolinea l'importanza di non sottovalutare le mutazioni di tipo missenso e soprattutto la necessità di personalizzare la stratificazione del rischio per tale sottogruppo di pazienti. Infatti, la distinzione tra mutazioni di tipo missenso e non missenso (inserzioni, delezioni, mutazioni troncanti o del sito di splicing) come predittore prognostico risulta eccessivamente semplicistica e non tiene conto della eterogeneità e complessità della relazione genotipo-fenotipo.

### **5.3 PREDITTORI DI OUTCOME COMPOSITO**

L'analisi di regressione univariata ha individuato come possibile predittore di outcome la dilatazione del ventricolo destro, confermando quanto osservato da Skjølsvik et al. (148), che hanno identificato la disfunzione e la dilatazione del ventricolo destro, come forti predittori di eventi cardiaci avversi. Ciò sottolinea l'importanza dello stretto monitoraggio dei parametri del ventricolo destro nelle

cardiolaminopatie, caratterizzate da assenza o limitata dilatazione ventricolare sinistra anche in stadio terminale (6,81,113,114).

Come già evidenziato in letteratura, la fibrillazione atriale è risultata predittore di outcome. Yeung et al. (180) hanno osservato come nella progressione delle cardiomiopatie ereditarie, la presenza di fibrillazione atriale possa rappresentare un punto di svolta, promuovendo il deterioramento clinico e aumentando la morbilità e la mortalità. Infatti, la presenza di FA è associata a una prognosi peggiore ed a un aumento del rischio di esiti avversi. Inoltre, la FA può indurre un rimodellamento strutturale del miocardio atriale, creando un circolo vizioso patogenetico. Recentemente Shin et al. (181) hanno osservato come la FA si associ ad alterazione dell'espressione e della localizzazione della connessina 43 (46,85–87), coinvolta nella patogenesi delle aritmie, ed a fibrosi interstiziale.

Inoltre, il blocco di branca sinistro, i disturbi di conduzione ed il ritmo da pacemaker nel nostro studio sono risultati associati ad un maggiore rischio, pur non raggiungendo la significatività, a causa della limitata dimensione campionaria. In particolare, per quanto riguarda il blocco di branca sinistra, Gentile et al. (182) hanno osservato che non è un predittore di mortalità nei pazienti con DCM e FE compresa tra il 36-50%. Invece, Aleksova et al. (183) hanno riscontrato che nella DCM idiopatica la nuova insorgenza di BBS è un predittore indipendente di mortalità. Nella nostra analisi il BBS presenta un'OR molto elevato (8.25) e si approssima alla significatività ( $p=0.06$ ). Data la tipica insorgenza precoce nei pazienti con mutazione *LMNA*, il BBS potrebbe giocare un importante ruolo come marcatore prognostico.

Infine, in accordo con la letteratura, la presenza di FE conservata correla con una buona prognosi. Infatti, valori di  $FE < 45\%$  sono considerati predittivi di outcome negativo (51,53–55).

#### **5.4 CONFRONTO TRA VARIANTI DI CLASSE 4 E 5 DEI GENI *LMNA* E *DSP***

Le mutazioni della *DSP* possono essere causa di forme left dominant di cardiomiopatia aritmogena, classificate nelle ultime linee guida come NDLCV (109) e che si caratterizzano per il frequente coinvolgimento del ventricolo sinistro, la presenza di onde T invertite infero-laterali, fibrosi ed elevato burden aritmico

(184,185). Pertanto, la diagnosi differenziale tra le forme left-dominant e le cardiolaminopatie risulta complessa.

La letteratura riporta in pazienti con varianti *DSP* e *LMNA* un'età di insorgenza simile che si colloca tra la II e la III decade di vita. Nelle nostre coorti di pazienti, il gruppo *DSP* mostrava età di insorgenza simile a quelle riscontrata in letteratura, mentre nel gruppo *LMNA* l'età era superiore a quella riportata in letteratura (5,21,51,112). Questo risultato non è facilmente interpretabile, considerando che la popolazione *LMNA* è composta da probandi in misura significativamente maggiore rispetto alla popolazione *DSP*, e ci saremmo aspettati un risultato opposto riguardo all'età dei pazienti alla diagnosi. Questo risultato potrebbe essere dovuto ad un ritardo diagnostico nella popolazione *LMNA* del nostro campione.

Infatti nel gruppo *LMNA* il numero di probandi risultava significativamente superiore (*LMNA*= 18/66.67%, *DSP*=19/39.58%,  $p=0.04$ ); Wang et al. (186) riportano per la mutazione della *DSP* una percentuale di probandi del 49% (45 probandi su 91 pazienti). Tuttavia, essendo il nostro un centro a cui afferiscono pazienti con diagnosi sospetta o accertata di Cardiomiopatia aritmogena, è possibile che il numero maggiore di familiari per il gene *DSP* sia influenzato dal bias di selezione dello screening dei familiari.

La fibrillazione atriale era più frequentemente associata alle mutazioni del gene *LMNA* (33.33%), confermando la sua elevata incidenza nei pazienti con cardiolaminopatia (51,126,127,130). Inoltre, nel nostro campione la presenza di fibrillazione atriale non è stata rilevata in alcun soggetto del gruppo *DSP*, in letteratura alcuni studi riportano la fibrillazione atriale nella cardiomiopatia *DSP*-correlata (180).

In accordo con la letteratura, dal punto di vista elettrocardiografico, il gruppo *LMNA* si caratterizzava per la maggior frequenza di disturbi di conduzione (81,120,121,124) e per bassi voltaggi nelle derivazioni precordiali (125,187). Invece il gruppo *DSP* si differenziava significativamente per la presenza di onde T invertite nelle derivazioni V1-V3 e ritmo indotto da pacemaker. Sebbene le onde T invertite nelle derivazioni inferolaterali siano considerate un segno distintivo delle mutazioni di *DSP* come conseguenza di coinvolgimento ventricolare sinistro (188–190), sono state descritte anche onde T invertite nelle derivazioni precordiali (188). Interessante è la maggiore frequenza di ritmo da pacemaker nel gruppo con *DSP*,

in quanto tipicamente sono le mutazioni del gene *LMNA* ad associarsi a blocchi atrioventricolari di vario grado e bradiaritmia progressiva (112,120–122,154).

All'ecocardiografia è stata rilevata una differenza significativa per la frazione d'accorciamento (FAC), minore nei pazienti del gruppo *LMNA*, probabilmente dovuta ad un bias di selezione, in quanto i pazienti del gruppo *DSP* avevano tutti forme left dominant. Inoltre, il volume telediastolico medio del ventricolo sinistro risultava maggiore nei pazienti del gruppo *LMNA*. Ciò potrebbe essere dovuto al tipico coinvolgimento epicardico della cardiomiopatia *DSP*-correlata, per cui generalmente le dimensioni e la funzione ventricolare sinistra sono conservate (190). Tuttavia, anche nelle cardiolaminopatie la dilatazione ventricolare sinistra è tipicamente modesta o del tutto assente, anche in stadi avanzati di malattia (6,81,113,114), però se presente può essere indice di una transizione verso un fenotipo più aritmogeno (147).

Alla RMC la dilatazione biventricolare risultava significativamente maggiore nel gruppo *LMNA*, pur non essendo tipica delle cardiomiopatie *LMNA*-correlate (6,81,113,114). Infatti, solitamente la dilatazione ventricolare destra e sinistra è rara, ma se presente si associa a cattiva prognosi (147,148). Inoltre, il gruppo *DSP* presentava maggiore fibrosi, con presenza di LGE in più di 2 e 3 segmenti significativamente superiore, in linea con il tipico coinvolgimento estensivo con pattern epicardico ring-like (191,191–193). Anche le mutazioni del gene *LMNA* si associano a fibrosi, che però presenta un pattern medio-parietale prevalentemente nel setto basale e medio del ventricolo sinistro (107,109,113,133,138).

Infine, al follow-up si confermava elevato burden aritmico di entrambi i tipi di mutazione. Infatti, i geni *LMNA* e *DSP* sono stati identificati dalle ultime linee guida (109) come ad alto rischio, con un'incidenza annua di SCD pari rispettivamente al 5-10% e 3-5%. Inoltre, si rilevava una maggiore incidenza di scompenso e trapianto cardiaco nel gruppo *LMNA*. Wang et al (186) hanno riportato per la *DSP* un'incidenza di scompenso del 6.6% all'anno.

## 6. CONCLUSIONI

Il nostro studio ha mostrato che i pazienti con varianti del gene *LMNA* possono presentare diversa espressione fenotipica, quale DCM, ARVC, NDLVC o non rientrare in nessuno dei fenotipi precedenti. Le varianti di incerto significato (VUS, Classe 3) mostrano caratteristiche clinico-strumentali sovrapponibili a quelle delle mutazioni patogene o probabilmente patogene (Classi 4 e 5) eccetto per gli outcome, che risultano peggiori nel gruppo con mutazioni di classe 4/5, in particolare per lo scompenso ed il trapianto cardiaco.

Dall'analisi di regressione sono risultati come predittori di outcome i seguenti fattori: la fibrillazione atriale, il volume telediastolico del ventricolo destro, la frazione d'eiezione destra e sinistra. Inoltre, il blocco di branca sinistra ed il ritmo da pacemaker presentavano elevato OR, pur non raggiungendo la significatività. A causa della natura retrospettiva e della bassa numerosità campionaria, tali predittori andranno successivamente validati in coorti più ampie.

Infine, dal confronto dei pazienti con mutazione del gene *LMNA* e *DSP* è emerso che l'incidenza di scompenso e di trapianto cardiaco era maggiore nei primi. Invece, i pazienti con mutazione del gene *DSP* presentavano maggiore fibrosi alla CMR. A conferma dell'elevata aritmogenicità dei pazienti con varianti di entrambi i geni, gli outcome aritmici sono risultati sovrapponibili nei due gruppi.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Worman HJ, Bonne G. “Laminopathies”: A wide spectrum of human diseases. *Exp Cell Res.* 10 giugno 2007;313(10):2121–33.
2. Schreiber KH, Kennedy BK. When Lamins Go Bad: Nuclear Structure and Disease. *Cell.* 14 marzo 2013;152(6):1365–75.
3. Crasto S, My I, Di Pasquale E. The Broad Spectrum of LMNA Cardiac Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Phenotype. *Front Physiol.* 3 luglio 2020.
4. Malashicheva A, Perepelina K. Diversity of Nuclear Lamin A/C Action as a Key to Tissue-Specific Regulation of Cellular Identity in Health and Disease. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9.
5. Cattin ME, Muchir A, Bonne G. ‘State-of-the-heart’ of cardiac laminopathies. *Curr Opin Cardiol.* maggio 2013;28(3):297.
6. Taylor MRG, Fain PR, Sinagra G, Robinson ML, Robertson AD, Carniel E, et al. Natural history of dilated cardiomyopathy due to lamin A/C gene mutations. *J Am Coll Cardiol.* 5 marzo 2003;41(5):771–80.
7. Bonne G, Barletta MRD, Varnous S, Bécane HM, Hammouda EH, Merlini L, et al. Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet.* marzo 1999;21(3):285–8.
8. Fatkin D, MacRae C, Sasaki T, Wolff MR, Porcu M, Frenneaux M, et al. Missense Mutations in the Rod Domain of the Lamin A/C Gene as Causes of Dilated Cardiomyopathy and Conduction-System Disease. *N Engl J Med.* 2 dicembre 1999;341(23):1715–24.
9. Muchir A, Bonne G, van der Kooi AJ, van Meegen M, Baas F, Bolhuis PA, et al. Identification of mutations in the gene encoding lamins A/C in autosomal dominant limb girdle muscular dystrophy with atrioventricular conduction disturbances (LGMD1B). *Hum Mol Genet.* 22 maggio 2000;9(9):1453–9.
10. Bonne G, Mercuri E, Muchir A, Urtizbera A, Bécane HM, Recan D, et al. Clinical and molecular genetic spectrum of autosomal dominant Emery-Dreifuss

muscular dystrophy due to mutations of the lamin A/C gene. *Ann Neurol.* 2000;48(2):170–80.

11. Brodsky GL, Muntoni F, Miodic S, Sinagra G, Sewry C, Mestroni L. Lamin A/C Gene Mutation Associated With Dilated Cardiomyopathy With Variable Skeletal Muscle Involvement. *Circulation.* 8 febbraio 2000;101(5):473–6.

12. Genschel J, Schmidt HHJ. Mutations in the LMNA gene encoding lamin A/C. *Hum Mutat.* 2000;16(6):451–9.

13. Genschel J, Baier P, Kuepferling S, Proepsting MJ, Buettner C, Ewert R, et al. A new frameshift mutation at codon 466 (1397delA) within the LMNA gene. *Hum Mutat.* settembre 2000;16(3):278.

14. Quijano-Roy S, Mbieleu B, Bönnemann CG, Jeannot PY, Colomer J, Clarke NF, et al. De novo LMNA mutations cause a new form of congenital muscular dystrophy. *Ann Neurol.* 2008;64(2):177–86.

15. Peretto G, Sala S, Benedetti S, Di Resta C, Gigli L, Ferrari M, et al. Updated clinical overview on cardiac laminopathies: an electrical and mechanical disease. *Nucleus.* 31 dicembre 2018;9(1):380–91.

16. Hershberger RE, Siegfried JD. Update 2011: Clinical and Genetic Issues in Familial Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 19 aprile 2011;57(16):1641–9.

17. McNally EM, Mestroni L. Dilated Cardiomyopathy. *Circ Res.* 15 settembre 2017;121(7):731–48.

18. Jordan E, Peterson L, Ai T, Asatryan B, Bronicki L, Brown E, et al. Evidence-Based Assessment of Genes in Dilated Cardiomyopathy. *Circulation.* 6 luglio 2021;144(1):7–19.

19. Arbustini E, Pilotto A, Repetto A, Grasso M, Negri A, Diegoli M, et al. Autosomal dominant dilated cardiomyopathy with atrioventricular block: a lamin A/C defect-related disease. *J Am Coll Cardiol.* 20 marzo 2002;39(6):981–90.

20. Raffaele di Barletta M, Ricci E, Galluzzi G, Tonali P, Mora M, Morandi L, et al. Different Mutations in the LMNA Gene Cause Autosomal Dominant and Autosomal Recessive Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy. *Am J Hum Genet.* aprile 2000;66(4):1407–12.
21. Hasselberg NE, Haland TF, Saberniak J, Brekke PH, Berge KE, Leren TP, et al. Lamin A/C cardiomyopathy: young onset, high penetrance, and frequent need for heart transplantation. *Eur Heart J.* 7 marzo 2018;39(10):853–60.
22. van Rijsingen IAW, Nannenberg EA, Arbustini E, Elliott PM, Mogensen J, Hermans-van Ast JF, et al. Gender-specific differences in major cardiac events and mortality in lamin A/C mutation carriers. *Eur J Heart Fail.* 2013;15(4):376–84.
23. Nishiuchi S, Makiyama T, Aiba T, Nakajima K, Hirose S, Kohjitani H, et al. Gene-Based Risk Stratification for Cardiac Disorders in LMNA Mutation Carriers. *Circ Cardiovasc Genet.* 1 dicembre 2017;10(6):e001603.
24. Barriales-Villa R, Ochoa JP, Larrañaga-Moreira JM, Salazar-Mendiguchía J, Díez-López C, Restrepo-Córdoba MA, et al. Risk predictors in a Spanish cohort with cardiac laminopathies. The REDLAMINA registry. *Rev Esp Cardiol Engl Ed.* 1 marzo 2021;74(3):216–24.
25. Arimura T, Onoue K, Takahashi-Tanaka Y, Ishikawa T, Kuwahara M, Setou M, et al. Nuclear accumulation of androgen receptor in gender difference of dilated cardiomyopathy due to lamin A/C mutations. *Cardiovasc Res.* 1 agosto 2013;99(3):382–94.
26. Gao XM, Agrotis A, Autelitano DJ, Percy E, Woodcock EA, Jennings GL, et al. Sex Hormones and Cardiomyopathic Phenotype Induced by Cardiac  $\beta$ 2-Adrenergic Receptor Overexpression. *Endocrinology.* 1 settembre 2003;144(9):4097–105.
27. Forleo C, Carmosino M, Resta N, Rampazzo A, Valecche R, Sorrentino S, et al. Clinical and Functional Characterization of a Novel Mutation in Lamin A/C Gene in a Multigenerational Family with Arrhythmogenic Cardiac Laminopathy. *PLOS ONE.* 2 aprile 2015;10(4):e0121723.
28. Quarta G, Syrris P, Ashworth M, Jenkins S, Zuborne Alapi K, Morgan J, et al. Mutations in the Lamin A/C gene mimic arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 1 maggio 2012;33(9):1128–36.

29. Kato K, Takahashi N, Fujii Y, Umehara A, Nishiuchi S, Makiyama T, et al. LMNA cardiomyopathy detected in Japanese arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy cohort. *J Cardiol*. 1 ottobre 2016;68(4):346–51.
30. Sedaghat-Hamedani F, Haas J, Zhu F, Geier C, Kayvanpour E, Liss M, et al. Clinical genetics and outcome of left ventricular non-compaction cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 7 dicembre 2017;38(46):3449–60.
31. Lin F, Worman HJ. Structural organization of the human gene encoding nuclear lamin A and nuclear lamin C. *J Biol Chem*. agosto 1993;268(22):16321–6.
32. Machiels BM, Zorenc AHG, Endert JM, Kuijpers HJH, Eys GJJM van, Ramaekers FCS, et al. An Alternative Splicing Product of the Lamin A/C Gene Lacks Exon 10 (\*). *J Biol Chem*. 19 aprile 1996;271(16):9249–53.
33. Shin JY, Worman HJ. Molecular Pathology of Laminopathies. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 24 gennaio 2022;17(Volume 17, 2022):159–80.
34. Tesson F, Saj M, Uvaize M, Nicolas H, Płoski R, Bilińska Z. Lamin A/C mutations in dilated cardiomyopathy. *Cardiol J*. 29 agosto 2014;21(4):331–42.
35. Jakobs PM, Hanson EL, Crispell KA, Toy W, Keegan H, Schilling K, et al. Novel lamin A/C mutations in two families with dilated cardiomyopathy and conduction system disease. *J Card Fail*. 1 settembre 2001;7(3):249–56.
36. van Tintelen JP, Hofstra RMW, Katerberg H, Rossenbacker T, Wiesfeld ACP, du Marchie Sarvaas GJ, et al. High yield of LMNA mutations in patients with dilated cardiomyopathy and/or conduction disease referred to cardiogenetics outpatient clinics. *Am Heart J*. 1 dicembre 2007;154(6):1130–9.
37. Hoorntje ET, Bollen IA, Barge-Schaapveld DQ, van Tienen FH, te Meerman GJ, Jansweijer JA, et al. Lamin A/C-Related Cardiac Disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 1 agosto 2017;10(4):e001631.
38. Sébillon P, Bouchier C, Bidot LD, Bonne G, Ahamed K, Charron P, et al. Expanding the phenotype of LMNA mutations in dilated cardiomyopathy and functional consequences of these mutations. *J Med Genet*. 1 agosto 2003;40(8):560.

39. Wang Y, Dobрева G. Epigenetics in LMNA-Related Cardiomyopathy. *Cells*. 2023;12(5).
  
40. Gacita AM, Fullenkamp DE, Ohiri J, Pottinger T, Puckelwartz MJ, Nobrega MA, et al. Genetic variation in enhancers modifies cardiomyopathy gene expression and progression. *Circulation*. 30 marzo 2021;143(13):1302–16.
  
41. Benedetti S, Menditto I, Degano M, Rodolico C, Merlini L, D'Amico A, et al. Phenotypic clustering of lamin A/C mutations in neuromuscular patients. *Neurology*. 18 settembre 2007;69(12):1285–92.
  
42. Captur G, Arbustini E, Syrris P, Radenkovic D, O'Brien B, McKenna WJ, et al. Lamin mutation location predicts cardiac phenotype severity: combined analysis of the published literature. *Open Heart*. 1 ottobre 2018;5(2):e000915.
  
43. Hegele R. LMNA mutation position predicts organ system involvement in laminopathies. *Clin Genet*. 1 luglio 2005;68(1):31–4.
  
44. Bertrand AT, Chikhaoui K, Yaou RB, Bonne G. Clinical and genetic heterogeneity in laminopathies. *Biochem Soc Trans*. 21 novembre 2011;39(6):1687–92.
  
45. Geiger SK, Bär H, Ehlermann P, Wälde S, Rutschow D, Zeller R, et al. Incomplete nonsense-mediated decay of mutant lamin A/C mRNA provokes dilated cardiomyopathy and ventricular tachycardia. *J Mol Med*. 1 marzo 2008;86(3):281–9.
  
46. Ling X, Hou Y, Jia X, Lan Y, Wu X, Wu J, et al. Characterization of cardiac involvement in patients with LMNA splice-site mutation-related dilated cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Front Genet*. 2024;14.
  
47. Narula Nupoor, Favalli Valentina, Tarantino Paolo, Grasso Maurizia, Pilotto Andrea, Bellazzi Riccardo, et al. Quantitative Expression of the Mutated Lamin A/C Gene in Patients With Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 6 novembre 2012;60(19):1916–20.
  
48. Cattin ME, Bertrand AT, Schlossarek S, Le Bihan MC, Skov Jensen S, Neuber C, et al. Heterozygous Lmna<sup>delK32</sup> mice develop dilated cardiomyopathy through a combined pathomechanism of haploinsufficiency and peptide toxicity. *Hum Mol Genet*. 1 agosto 2013;22(15):3152–64.

49. Bollati M, Barbiroli A, Favalli V, Arbustini E, Charron P, Bolognesi M. Structures of the lamin A/C R335W and E347K mutants: Implications for dilated cardiomyopathies. *Biochem Biophys Res Commun*. 10 febbraio 2012;418(2):217–21.
50. Rivas MA, Pirinen M, Conrad DF, Lek M, Tsang EK, Karczewski KJ, et al. Effect of predicted protein-truncating genetic variants on the human transcriptome. *Science*. 8 maggio 2015;348(6235):666–9.
51. Kumar S, Baldinger SH, Gandjbakhch E, Maury P, Sellal JM, Androulakis AFA, et al. Long-Term Arrhythmic and Nonarrhythmic Outcomes of Lamin A/C Mutation Carriers. *J Am Coll Cardiol*. 29 novembre 2016;68(21):2299–307.
52. Wolf CM, Wang L, Alcalai R, Pizard A, Burgon PG, Ahmad F, et al. Lamin A/C haploinsufficiency causes dilated cardiomyopathy and apoptosis-triggered cardiac conduction system disease. *J Mol Cell Cardiol*. 1 febbraio 2008;44(2):293–303.
53. Wahbi K, Ben Yaou R, Gandjbakhch E, Anselme F, Gossios T, Lakdawala NK, et al. Development and Validation of a New Risk Prediction Score for Life-Threatening Ventricular Tachyarrhythmias in Laminopathies. *Circulation*. 23 luglio 2019;140(4):293–302.
54. Pasotti M, Klersy C, Pilotto A, Marziliano N, Rapezzi C, Serio A, et al. Long-Term Outcome and Risk Stratification in Dilated Cardiomyopathies. *J Am Coll Cardiol*. 7 ottobre 2008;52(15):1250–60.
55. van Rijsingen IAW, Arbustini E, Elliott PM, Mogensen J, Hermans-van Ast JF, van der Kooi AJ, et al. Risk Factors for Malignant Ventricular Arrhythmias in Lamin A/C Mutation Carriers: A European Cohort Study. *J Am Coll Cardiol*. 31 gennaio 2012;59(5):493–500.
56. Barriales-Villa R, Larrañaga-Moreira JM, Ochoa JP. Letter by Barriales-Villa et al Regarding Article, “Development and Validation of a New Risk Prediction Score for Life-Threatening Ventricular Tachyarrhythmias in Laminopathies”. *Circulation*. 3 dicembre 2019;140(23):e818–9.
57. Sinagra G, Dal Ferro M, Merlo M. Lamin A/C Cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 1 dicembre 2017;10(6):e002004.

58. Lazarte J, Jurgens SJ, Choi SH, Khurshid S, Morrill VN, Weng LC, et al. LMNA Variants and Risk of Adult-Onset Cardiac Disease. *J Am Coll Cardiol*. 5 luglio 2022;80(1):50–9.
59. Valtuille L, Paterson I, Kim DH, Mullen J, Sergi C, Oudit GY. A case of lamin A/C mutation cardiomyopathy with overlap features of ARVC: A critical role of genetic testing. *Int J Cardiol*. 9 ottobre 2013;168(4):4325–7.
60. Glöcklhofer CR, Steinfurt J, Franke G, Hoppmann A, Glantschnig T, Perez-Feliz S, et al. A novel LMNA nonsense mutation causes two distinct phenotypes of cardiomyopathy with high risk of sudden cardiac death in a large five-generation family. *EP Eur*. 1 dicembre 2018;20(12):2003–13.
61. Chen J, Ma Y, Li H, Lin Z, Yang Z, Zhang Q, et al. Rare and potential pathogenic mutations of LMNA and LAMA4 associated with familial arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia with right ventricular heart failure, cerebral thromboembolism and hereditary electrocardiogram abnormality. *Orphanet J Rare Dis*. 7 maggio 2022;17(1):183.
62. Liang JJ, Goodsell K, Grogan M, Ackerman MJ. LMNA-Mediated Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy and Charcot-Marie-Tooth Type 2B1: A Patient-Discovered Unifying Diagnosis. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1 luglio 2016;27(7):868–71.
63. Turgay Y, Eibauer M, Goldman AE, Shimi T, Khayat M, Ben-Harush K, et al. The molecular architecture of lamins in somatic cells. *Nature*. 9 marzo 2017;543(7644):261–4.
64. Herrmann H, Aebi U. Intermediate Filaments: Molecular Structure, Assembly Mechanism, and Integration Into Functionally Distinct Intracellular Scaffolds. Vol. 73, *Annual Review of Biochemistry*. Annual Reviews; 2004. p. 749–89.
65. Aebi U, Cohn J, Buhle L, Gerace L. The nuclear lamina is a meshwork of intermediate-type filaments. *Nature*. ottobre 1986;323(6088):560–4.
66. Schirmer EC, Foisner R. Proteins that associate with lamins: Many faces, many functions. *Spec Issue - Intermed Filam*. 10 giugno 2007;313(10):2167–79.

67. Méjat A. LINC complexes in health and disease. *Nucleus*. 1 gennaio 2010;1(1):40–52.
68. Crisp M, Liu Q, Roux K, Rattner JB, Shanahan C, Burke B, et al. Coupling of the nucleus and cytoplasm: Role of the LINC complex. *J Cell Biol*. 27 dicembre 2005;172(1):41–53.
69. Gruenbaum Y, Foisner R. Lamins: Nuclear Intermediate Filament Proteins with Fundamental Functions in Nuclear Mechanics and Genome Regulation. *Annu Rev Biochem*. 2 giugno 2015;84(1):131–64.
70. Andrés V, González JM. Role of A-type lamins in signaling, transcription, and chromatin organization. *J Cell Biol*. 28 dicembre 2009;187(7):945–57.
71. Leeuw R de, Gruenbaum Y, Medalia O. Nuclear Lamins: Thin Filaments with Major Functions. *Trends Cell Biol*. 1 gennaio 2018;28(1):34–45.
72. Lammerding J, Schulze PC, Takahashi T, Kozlov S, Sullivan T, Kamm RD, et al. Lamin A/C deficiency causes defective nuclear mechanics and mechanotransduction. *J Clin Invest*. 1 febbraio 2004;113(3):370–8.
73. Swift J, Ivanovska IL, Buxboim A, Harada T, Dingal PCDP, Pinter J, et al. Nuclear Lamin-A Scales with Tissue Stiffness and Enhances Matrix-Directed Differentiation. *Science*. 30 agosto 2013;341(6149):1240104.
74. Hah J, Kim DH. Deciphering Nuclear Mechanobiology in Laminopathy. *Cells*. 2019;8(3).
75. Veltrop RJA, Kukk MM, Topouzidou K, Didden L, Muchir A, van Steenbeek FG, et al. From gene to mechanics: a comprehensive insight into the mechanobiology of LMNA mutations in cardiomyopathy. *Cell Commun Signal CCS*. 27 marzo 2024;22:197.
76. Steensel B van, Belmont AS. Lamina-Associated Domains: Links with Chromosome Architecture, Heterochromatin, and Gene Repression. *Cell*. 18 maggio 2017;169(5):780–91.

77. Briand N, Collas P. Laminopathy-causing lamin A mutations reconfigure lamina-associated domains and local spatial chromatin conformation. *Nucleus*. 8 marzo 2018;9(1):216–26.
78. Reddy KL, Zullo JM, Bertolino E, Singh H. Transcriptional repression mediated by repositioning of genes to the nuclear lamina. *Nature*. marzo 2008;452(7184):243–7.
79. Liu SY, Ikegami K. Nuclear lamin phosphorylation: an emerging role in gene regulation and pathogenesis of laminopathies. *Nucleus*. 11(1):299–314.
80. Lee J, Termglinchan V, Diecke S, Itzhaki I, Lam CK, Garg P, et al. Activation of PDGF pathway links LMNA mutation to dilated cardiomyopathy. *Nature*. 1 agosto 2019;572(7769):335–40.
81. Captur G, Arbustini E, Bonne G, Syrris P, Mills K, Wahbi K, et al. Lamin and the heart. *Heart*. 1 marzo 2018;104(6):468–79.
82. Nikolova V, Leimena C, McMahon AC, Tan JC, Chandar S, Jogia D, et al. Defects in nuclear structure and function promote dilated cardiomyopathy in lamin A/C-deficient mice. *J Clin Invest*. 1 febbraio 2004;113(3):357–69.
83. Brayson D, Shanahan CM. Current insights into LMNA cardiomyopathies: Existing models and missing LINC. *Nucleus*. 2 gennaio 2017;8(1):17–33.
84. Le Dour C, Chatzifrangkeskou M, Macquart C, Magiera MM, Peccate C, Jouve C, et al. Actin-microtubule cytoskeletal interplay mediated by MRTF-A/SRF signaling promotes dilated cardiomyopathy caused by LMNA mutations. *Nat Commun*. 22 dicembre 2022;13(1):7886.
85. Macquart C, Jüttner R, Morales Rodriguez B, Le Dour C, Lefebvre F, Chatzifrangkeskou M, et al. Microtubule cytoskeleton regulates Connexin 43 localization and cardiac conduction in cardiomyopathy caused by mutation in A-type lamins gene. *Hum Mol Genet*. 15 dicembre 2019;28(24):4043–52.
86. Duffy HS. The molecular mechanisms of gap junction remodeling. *Heart Rhythm*. 1 agosto 2012;9(8):1331–4.

87. Jongsma HJ, Wilders R. Gap Junctions in Cardiovascular Disease. *Circ Res.* 23 giugno 2000;86(12):1193–7.
88. Worman HJ, Fong LG, Muchir A, Young SG. Laminopathies and the long strange trip from basic cell biology to therapy. *J Clin Invest.* 1 luglio 2009;119(7):1825–36.
89. Mozzetta C, Tedesco FS. Challenging the “chromatin hypothesis” of cardiac laminopathies with LMNA mutant iPS cells. *J Cell Biol.* 19 agosto 2019;218(9):2826–8.
90. Bertero A, Fields PA, Smith AST, Leonard A, Beussman K, Sniadecki NJ, et al. Chromatin compartment dynamics in a haploinsufficient model of cardiac laminopathy. *J Cell Biol.* 8 agosto 2019;218(9):2919–44.
91. Wang Y, Elsherbiny A, Kessler L, Cordero J, Shi H, Serke H, et al. Lamin A/C-dependent chromatin architecture safeguards naïve pluripotency to prevent aberrant cardiovascular cell fate and function. *Nat Commun.* 4 novembre 2022;13(1):6663.
92. Salvarani N, Crasto S, Miragoli M, Bertero A, Paulis M, Kunderfranco P, et al. The K219T-Lamin mutation induces conduction defects through epigenetic inhibition of SCN5A in human cardiac laminopathy. *Nat Commun.* 22 maggio 2019;10(1):2267.
93. Muchir A, Pavlidis P, Decostre V, Herron AJ, Arimura T, Bonne G, et al. Activation of MAPK pathways links *LMNA* mutations to cardiomyopathy in Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *J Clin Invest.* 1 maggio 2007;117(5):1282–93.
94. Muchir A, Wu W, Choi JC, Iwata S, Morrow J, Homma S, et al. Abnormal p38 $\alpha$  mitogen-activated protein kinase signaling in dilated cardiomyopathy caused by lamin A/C gene mutation. *Hum Mol Genet.* 1 ottobre 2012;21(19):4325–33.
95. Choi JC, Muchir A, Wu W, Iwata S, Homma S, Morrow JP, et al. Temsirolimus activates autophagy and ameliorates cardiomyopathy caused by lamin A/C gene mutation. *Sci Transl Med.* 7 luglio 2012;4(144):144ra102.
96. Muchir A, Shan J, Bonne G, Lehnart SE, Worman HJ. Inhibition of extracellular signal-regulated kinase signaling to prevent cardiomyopathy caused

by mutation in the gene encoding A-type lamins. *Hum Mol Genet.* 15 gennaio 2009;18(2):241–7.

97. Bernasconi P, Carboni N, Ricci G, Siciliano G, Politano L, Maggi L, et al. Elevated TGF  $\beta$ 2 serum levels in Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy: Implications for myocyte and tenocyte differentiation and fibrogenic processes. *Nucleus.* 31 dicembre 2018;9(1):337–49.

98. Communal C, Colucci WS, Remondino A, Sawyer DB, Port JD, Wichman SE, et al. Reciprocal modulation of mitogen-activated protein kinases and mitogen-activated protein kinase phosphatase 1 and 2 in failing human myocardium. *J Card Fail.* 1 aprile 2002;8(2):86–92.

99. Choi JC, Wu W, Muchir A, Iwata S, Homma S, Worman HJ. Dual Specificity Phosphatase 4 Mediates Cardiomyopathy Caused by Lamin A/C (LMNA) Gene Mutation \*. *J Biol Chem.* 23 novembre 2012;287(48):40513–24.

100. Alastalo TP, West G, Li SP, Keinänen A, Helenius M, Tyni T, et al. LMNA Mutation c.917T>G (p.L306R) Leads to Deleterious Hyper-Assembly of Lamin A/C and Associates with Severe Right Ventricular Cardiomyopathy and Premature Aging. *Hum Mutat.* 1 luglio 2015;36(7):694–703.

101. Garcia-Gras E, Lombardi R, Giocondo MJ, Willerson JT, Schneider MD, Khoury DS, et al. Suppression of canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by nuclear plakoglobin recapitulates phenotype of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Clin Invest.* 3 luglio 2006;116(7):2012–21.

102. Ross SE, Hemati N, Longo KA, Bennett CN, Lucas PC, Erickson RL, et al. Inhibition of Adipogenesis by Wnt Signaling. *Science.* 11 agosto 2000;289(5481):950–3.

103. Tilgner K, Wojciechowicz K, Jahoda C, Hutchison C, Markiewicz E. Dynamic complexes of A-type lamins and emerin influence adipogenic capacity of the cell via nucleocytoplasmic distribution of  $\beta$ -catenin. *J Cell Sci.* 1 febbraio 2009;122(3):401–13.

104. van Tintelen JP, Tio RA, Kerstjens-Frederikse WS, van Berlo JH, Boven LG, Suurmeijer AJH, et al. Severe Myocardial Fibrosis Caused by a Deletion of the 5' End of the Lamin A/C Gene. *J Am Coll Cardiol.* 26 giugno 2007;49(25):2430–9.

105. Graber HL, Unverferth DV, Baker PB, Ryan JM, Baba N, Wooley CF. Evolution of a hereditary cardiac conduction and muscle disorder: a study involving a family with six generations affected. *Circulation*. 1 luglio 1986;74(1):21–35.
106. Kumar S, Androulakis AFA, Sellal JM, Maury P, Gandjbakhch E, Waintraub X, et al. Multicenter Experience With Catheter Ablation for Ventricular Tachycardia in Lamin A/C Cardiomyopathy. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 1 agosto 2016;9(8):e004357.
107. Fontana M, Barison A, Botto N, Panchetti L, Ricci G, Milanesi M, et al. CMR-Verified Interstitial Myocardial Fibrosis as a Marker of Subclinical Cardiac Involvement in LMNA Mutation Carriers. *JACC Cardiovasc Imaging*. 1 gennaio 2013;6(1):124–6.
108. Boriani G, Biagini E, Ziacchi M, Malavasi VL, Vitolo M, Talarico M, et al. Cardiolaminopathies from bench to bedside: challenges in clinical decision-making with focus on arrhythmia-related outcomes. *Nucleus*. 31 dicembre 2018;9(1):442–59.
109. Arbelo E, Protonotarios A, Gimeno JR, Arbustini E, Barriales-Villa R, Basso C, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of cardiomyopathies: Developed by the task force on the management of cardiomyopathies of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 1 ottobre 2023;44(37):3503–626.
110. Escobar-Lopez L, Ochoa JP, Mirelis JG, Espinosa MÁ, Navarro M, Gallego-Delgado M, et al. Association of Genetic Variants With Outcomes in Patients With Nonischemic Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 26 ottobre 2021;78(17):1682–99.
111. Kayvanpour E, Sedaghat-Hamedani F, Amr A, Lai A, Haas J, Holzer DB, et al. Genotype-phenotype associations in dilated cardiomyopathy: meta-analysis on more than 8000 individuals. *Clin Res Cardiol*. 1 febbraio 2017;106(2):127–39.
112. van Berlo JH, de Voogt WG, van der Kooi AJ, van Tintelen JP, Bonne G, Yaou RB, et al. Meta-analysis of clinical characteristics of 299 carriers of LMNA gene mutations: do lamin A/C mutations portend a high risk of sudden death? *J Mol Med*. 1 gennaio 2005;83(1):79–83.
113. Holmström M, Kivistö S, Heliö T, Jurkko R, Kaartinen M, Antila M, et al. Late gadolinium enhanced cardiovascular magnetic resonance of lamin A/C gene

mutation related dilated cardiomyopathy. *J Cardiovasc Magn Reson*. 5 gennaio 2011;13(1):30.

114. Charron P, Arbustini E, Bonne G. What Should the Cardiologist know about Lamin Disease? *Arrhythmia Electrophysiol Rev*. settembre 2012;1(1):22–8.

115. Gigli M, Merlo M, Graw SL, Barbati G, Rowland TJ, Slavov DB, et al. Genetic Risk of Arrhythmic Phenotypes in Patients With Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 17 settembre 2019;74(11):1480–90.

116. Verdonschot JAJ, Hazebroek MR, Wang P, Sanders-van Wijk S, Merken JJ, Adriaansen YA, et al. Clinical Phenotype and Genotype Associations With Improvement in Left Ventricular Function in Dilated Cardiomyopathy. *Circ Heart Fail*. 1 novembre 2018;11(11):e005220.

117. Dal Ferro M, Stolfo D, Altinier A, Gigli M, Perrieri M, Ramani F, et al. Association between mutation status and left ventricular reverse remodelling in dilated cardiomyopathy. *Heart*. 1 novembre 2017;103(21):1704.

118. Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D, Basso C, Bauce B, Bluemke DA, et al. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Eur Heart J*. aprile 2010;31(7):806–14.

119. Taylor Michael D., Towbin Jeffrey A. The Significant Arrhythmia and Cardiomyopathy Burden of Lamin A/C Mutations\*. *J Am Coll Cardiol*. 29 novembre 2016;68(21):2308–10.

120. Brodt C, Siegfried JD, Hofmeyer M, Martel J, Rampersaud E, Li D, et al. Temporal Relationship of Conduction System Disease and Ventricular Dysfunction in LMNA Cardiomyopathy. *J Card Fail*. 1 aprile 2013;19(4):233–9.

121. Perrot A, Sigusch HH, Nägele H, Genschel J, Lehmkuhl H, Hetzer R, et al. Genetic and phenotypic analysis of dilated cardiomyopathy with conduction system disease: Demand for strategies in the management of presymptomatic lamin A/C mutant carriers. *Eur J Heart Fail*. 1 agosto 2006;8(5):484–93.

122. van Berlo JH, Duboc D, Pinto YM. Often seen but rarely recognised: cardiac complications of lamin A/C mutations. *Eur Heart J*. 1 maggio 2004;25(10):812–4.

123. Otomo J, Kure S, Shiba T, Karibe A, Shinozaki T, Yagi T, et al. Electrophysiological and Histopathological Characteristics of Progressive Atrioventricular Block Accompanied by Familial Dilated Cardiomyopathy Caused by a Novel Mutation of Lamin A/C Gene. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1 febbraio 2005;16(2):137–45.
124. Bécane HM, Bonne G, Varnous S, Muchir A, Ortega V, Hammouda EH, et al. High Incidence of Sudden Death with Conduction System and Myocardial Disease Due to Lamins A and C Gene Mutation. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1 novembre 2000;23(11):1661–6.
125. Ollila L, Nikus K, Holmström M, Jalanko M, Jurkko R, Kaartinen M, et al. Clinical disease presentation and ECG characteristics of <em>LMNA</em> mutation carriers. *Open Heart*. 1 gennaio 2017;4(1):e000474.
126. Yoneda ZT, Anderson KC, Quintana JA, O'Neill MJ, Sims RA, Glazer AM, et al. Early-Onset Atrial Fibrillation and the Prevalence of Rare Variants in Cardiomyopathy and Arrhythmia Genes. *JAMA Cardiol*. 1 dicembre 2021;6(12):1371–9.
127. Rosario KF, Karra R, Amos K, Landrostom AP, Lakdawala NK, Brezitski K, et al. LMNA Cardiomyopathy: Important Considerations for the Heart Failure Clinician. *J Card Fail*. 1 dicembre 2023;29(12):1657–66.
128. Fishbein MC, Siegel RJ, Thompson CE, Hopkins LC. Sudden Death of a Carrier of X-Linked Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy. *Ann Intern Med*. 1 novembre 1993;119(9):900–5.
129. Goette A, Kalman JM, Aguinaga L, Akar J, Cabrera JA, Chen SA, et al. EHRA/HRS/APHS/SOLAECE expert consensus on atrial cardiomyopathies: definition, characterization, and clinical implication. *EP Eur*. 1 ottobre 2016;18(10):1455–90.
130. Boriani G, Gallina M, Merlini L, Bonne G, Toniolo D, Amati S, et al. Clinical Relevance of Atrial Fibrillation/Flutter, Stroke, Pacemaker Implant, and Heart Failure in Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy. *Stroke*. 1 aprile 2003;34(4):901–8.
131. van Rijsingen IAW, Bakker A, Azim D, Hermans-van Ast JF, van der Kooi AJ, van Tintelen JP, et al. Lamin A/C mutation is independently associated with an increased risk of arterial and venous thromboembolic complications. *Int J Cardiol*. 20 settembre 2013;168(1):472–7.

132. Hasselberg NE, Edvardsen T, Petri H, Berge KE, Leren TP, Bundgaard H, et al. Risk prediction of ventricular arrhythmias and myocardial function in Lamin A/C mutation positive subjects. *EP Eur.* 1 aprile 2014;16(4):563–71.
133. Raman SV, Sparks EA, Baker PM, McCarthy B, Wooley CF. Mid-Myocardial Fibrosis by Cardiac Magnetic Resonance in Patients with Lamin A/C Cardiomyopathy: Possible Substrate for Diastolic Dysfunction. *J Cardiovasc Magn Reson.* 1 gennaio 2007;9(6):907–13.
134. Haugaa Kristina H., Hasselberg Nina E., Edvardsen Thor. Mechanical Dispersion by Strain Echocardiography: A Predictor of Ventricular Arrhythmias in Subjects With Lamin A/C Mutations. *JACC Cardiovasc Imaging.* 1 gennaio 2015;8(1):104–6.
135. Tremblay-Gravel M, Ichimura K, Picard K, Kawano Y, Dries AM, Haddad F, et al. Intrinsic Atrial Myopathy Precedes Left Ventricular Dysfunction and Predicts Atrial Fibrillation in Lamin A/C Cardiomyopathy. *Circ Genomic Precis Med.* 1 febbraio 2023;16(1):e003480.
136. Mestroni L, Sbaizero O. Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *Circulation.* 10 aprile 2018;137(15):1611–3.
137. Peretto G, Sala S, Lazzeroni D, Palmisano A, Gigli L, Esposito A, et al. Septal Late Gadolinium Enhancement and Arrhythmic Risk in Genetic and Acquired Non-Ischaemic Cardiomyopathies. *Heart Lung Circ.* 1 settembre 2020;29(9):1356–65.
138. Peretto G, Barison A, Forleo C, Di Resta C, Esposito A, Aquaro GD, et al. Late gadolinium enhancement role in arrhythmic risk stratification of patients with LMNA cardiomyopathy: results from a long-term follow-up multicentre study. *EP Eur.* 23 dicembre 2020;22(12):1864–72.
139. Barison A, Aimo A, Ortalda A, Todiere G, Grigoratos C, Passino C, et al. Late gadolinium enhancement as a predictor of functional recovery, need for defibrillator implantation and prognosis in non-ischemic dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 1 gennaio 2018;250:195–200.
140. Chmielewski P, Michalak E, Kowalik I, Franaszczyk M, Sobieszczanska-Malek M, Truszkowska G, et al. Can Circulating Cardiac Biomarkers Be Helpful in the Assessment of LMNA Mutation Carriers? *J Clin Med.* 2020;9(5).

141. Gerbino A, Forleo C, Milano S, Piccapane F, Procino G, Pepe M, et al. Pro-inflammatory cytokines as emerging molecular determinants in cardiomyopathies. *J Cell Mol Med*. 1 dicembre 2021;25(23):10902–15.
142. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, Calkins H, 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). *EP Eur*. 1 agosto 2011;13(8):1077–109.
143. Care M, Chauhan V, Spears D. Genetic Testing in Inherited Heart Diseases: Practical Considerations for Clinicians. *Curr Cardiol Rep*. 16 agosto 2017;19(9):88.
144. Verga L, Concardi M, Pilotto A, Bellini O, Pasotti M, Repetto A, et al. Loss of lamin A/C expression revealed by immuno-electron microscopy in dilated cardiomyopathy with atrioventricular block caused by LMNA gene defects. *Virchows Arch*. 1 novembre 2003;443(5):664–71.
145. Thuillot M, Maupain C, Gandjbakhch E, Waintraub X, Hidden-Lucet F, Isnard R, et al. External validation of risk factors for malignant ventricular arrhythmias in lamin A/C mutation carriers. *Eur J Heart Fail*. 1 febbraio 2019;21(2):253–4.
146. Rootwelt-Norberg C, Christensen AH, Skjølsvik ET, Chivulescu M, Vissing CR, Bundgaard H, et al. Timing of cardioverter-defibrillator implantation in patients with cardiac laminopathies—External validation of the LMNA-risk ventricular tachyarrhythmia calculator. *Heart Rhythm*. 1 marzo 2023;20(3):423–9.
147. Rootwelt-Norberg C, Skjølsvik ET, Chivulescu M, Bogsrud MP, Ribe MP, Aabel EW, et al. Disease progression rate is a strong predictor of ventricular arrhythmias in patients with cardiac laminopathies: a primary prevention cohort study. *EP Eur*. 1 febbraio 2023;25(2):634–42.
148. Skjølsvik ET, Haugen Lie Ø, Chivulescu M, Ribe M, Castrini AI, Broch K, et al. Progression of cardiac disease in patients with lamin A/C mutations. *Eur Heart J - Cardiovasc Imaging*. 1 aprile 2022;23(4):543–50.
149. Skjølsvik ET, Hasselberg NE, Dejgaard LA, Lie ØH, Andersen K, Holm T, et al. Exercise is Associated With Impaired Left Ventricular Systolic Function in Patients With Lamin A/C Genotype. *J Am Heart Assoc*. 21 gennaio 2020;9(2):e012937.

150. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 21 settembre 2021;42(36):3599–726.
151. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2023 Focused Update of the 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 1 ottobre 2023;44(37):3627–39.
152. Boriani G, Berti E, Belotti LMB, Biffi M, De Palma R, Malavasi VL, et al. Cardiac device therapy in patients with left ventricular dysfunction and heart failure: ‘real-world’ data on long-term outcomes (mortality, hospitalizations, days alive and out of hospital). *Eur J Heart Fail*. 1 giugno 2016;18(6):693–702.
153. Sidhu K, Castrini AI, Parikh V, Reza N, Owens A, Tremblay-Gravel M, et al. The response to cardiac resynchronization therapy in LMNA cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 1 aprile 2022;24(4):685–93.
154. Ollila LH, Nikus K, Parikka H, Weckström S, Tiina H. Timing of pacemaker and ICD implantation in <em>LMNA</em> mutation carriers. *Open Heart*. 1 aprile 2021;8(1):e001622.
155. Hindricks G, Potpara T, Dagres N, Arbelo E, Bax JJ, Blomström-Lundqvist C, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *Eur Heart J*. 1 febbraio 2021;42(5):373–498.
156. Meune Christophe, Van Berlo Jop H., Anselme Frédéric, Bonne Gisèle, Pinto Yigal M., Duboc Denis. Primary Prevention of Sudden Death in Patients with Lamin A/C Gene Mutations. *N Engl J Med*. 354(2):209–10.
157. Zeppenfeld K, Tfelt-Hansen J, de Riva M, Winkel BG, Behr ER, Blom NA, et al. 2022 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular

arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: Developed by the task force for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by the Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Eur Heart J.* 21 ottobre 2022;43(40):3997–4126.

158. Anselme F, Moubarak G, Savouré A, Godin B, Borz B, Drouin-Garraud V, et al. Implantable cardioverter-defibrillators in lamin A/C mutation carriers with cardiac conduction disorders. *Focus Issue Sudd Card Death.* 1 ottobre 2013;10(10):1492–8.

159. Sidhu K, Han L, Picard KCI, Tedrow UB, Lakdawala NK. Ventricular tachycardia in cardiolaminopathy: Characteristics and considerations for device programming. *Focus Issue Sudd Death.* 1 ottobre 2020;17(10):1704–10.

160. Zhang Hao, Ren Lu, Wu Joseph C. New Insights Into the Therapy for Lamin-Associated Dilated Cardiomyopathy\*. *JACC Basic Transl Sci.* 1 dicembre 2022;7(12):1246–8.

161. Benarroch L, Cohen E, Atalaia A, Ben Yaou R, Bonne G, Bertrand AT. Preclinical Advances of Therapies for Laminopathies. *J Clin Med.* 2021;10(21).

162. Judge DP, Lakdawala NK, Taylor MRG, Mestroni L, Li H, Oliver C, et al. Long-Term Efficacy and Safety of ARRY-371797 (PF-07265803) in Patients With Lamin A/C–Related Dilated Cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 15 novembre 2022;183:93–8.

163. Judge DP, Taylor MR, Li H, Oliver C, Angeli FS, Lee PA, et al. Long-Term Effectiveness of ARRY-371797 in People With Dilated Cardiomyopathy and a Faulty LMNA Gene: A Plain Language Summary. *Future Cardiol.* 1 marzo 2023;19(3):117–26.

164. Cheedipudi Sirisha M., Asghar Saman, Marian Ali J. Genetic Ablation of the DNA Damage Response Pathway Attenuates Lamin-Associated Dilated Cardiomyopathy in Mice. *JACC Basic Transl Sci.* 1 dicembre 2022;7(12):1232–45.

165. Nakajima T, Kaneko Y, Irie T, Kurabayashi M. Epimyocardium-Dominant Electrical Impairment in a Patient With Cardiolaminopathy. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1 maggio 2011;22(5):598–9.

166. Alba AC, Gaztañaga J, Foroutan F, Thavendiranathan P, Merlo M, Alonso-Rodriguez D, et al. Prognostic Value of Late Gadolinium Enhancement for the Prediction of Cardiovascular Outcomes in Dilated Cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Imaging*. 1 aprile 2020;13(4):e010105.
167. Gulati A, Jabbour A, Ismail TF, Guha K, Khwaja J, Raza S, et al. Association of Fibrosis With Mortality and Sudden Cardiac Death in Patients With Nonischemic Dilated Cardiomyopathy. *JAMA*. 6 marzo 2013;309(9):896–908.
168. Halliday Brian P., Baksi A. John, Gulati Ankur, Ali Aamir, Newsome Simon, Izgi Cemil, et al. Outcome in Dilated Cardiomyopathy Related to the Extent, Location, and Pattern of Late Gadolinium Enhancement. *JACC Cardiovasc Imaging*. 1 agosto 2019;12(8\_Part\_2):1645–55.
169. Di Marco Andrea, Brown Pamela Frances, Bradley Joshua, Nucifora Gaetano, Claver Eduard, de Frutos Fernando, et al. Improved Risk Stratification for Ventricular Arrhythmias and Sudden Death in Patients With Nonischemic Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 15 giugno 2021;77(23):2890–905.
170. De Angelis G, De Luca A, Merlo M, Nucifora G, Rossi M, Stolfo D, et al. Prevalence and prognostic significance of ischemic late gadolinium enhancement pattern in non-ischemic dilated cardiomyopathy. *Am Heart J*. 1 aprile 2022;246:117–24.
171. Becker Marthe A.J., Cornel Jan H., van de Ven Peter M., van Rossum Albert C., Allaart Cornelis P., Germans Tjeerd. The Prognostic Value of Late Gadolinium-Enhanced Cardiac Magnetic Resonance Imaging in Nonischemic Dilated Cardiomyopathy. *JACC Cardiovasc Imaging*. 1 settembre 2018;11(9):1274–84.
172. Hsia HH, Callans DJ, Marchlinski FE. Characterization of Endocardial Electrophysiological Substrate in Patients With Nonischemic Cardiomyopathy and Monomorphic Ventricular Tachycardia. *Circulation*. 12 agosto 2003;108(6):704–10.
173. Muller RD, McDonald T, Pope K, Cragun D. Evaluation of Clinical Practices Related to Variants of Uncertain Significance Results in Inherited Cardiac Arrhythmia and Inherited Cardiomyopathy Genes. *Circ Genomic Precis Med*. 1 agosto 2020;13(4):e002789.

174. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 1 maggio 2015;17(5):405–23.
175. Reuter C, Grove ME, Orland K, Spoonamore K, Caleshu C. Clinical Cardiovascular Genetic Counselors Take a Leading Role in Team-based Variant Classification. *J Genet Couns*. 1 agosto 2018;27(4):751–60.
176. Fatkin D, Johnson R. Variants of Uncertain Significance and “Missing Pathogenicity”. *J Am Heart Assoc*. 4 febbraio 2020;9(3):e015588.
177. Morales A, Hershberger RE. Variants of Uncertain Significance. *Circ Genomic Precis Med*. 1 giugno 2018;11(6):e002169.
178. De Backer Julie, Narula Jagat. Cardiomyopathies. *J Am Coll Cardiol*. 5 luglio 2022;80(1):60–2.
179. Pessente GD, Sacilotto L, Calil ZO, Olivetti NQS, Wulkan F, Oliveira TGM de, et al. Effect of Occurrence of Lamin A/C (LMNA) Genetic Variants in a Cohort of 101 Consecutive Apparent “Lone AF” Patients: Results and Insights. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9.
180. Yeung C, Enriquez A, Suarez-Fuster L, Baranchuk A. Atrial fibrillation in patients with inherited cardiomyopathies. *EP Eur*. 1 gennaio 2019;21(1):22–32.
181. Shin SY, Jo WM, Min TJ, Kim BK, Song DH, Hyeon SH, et al. Gap junction remodelling by chronic pressure overload is related to the increased susceptibility to atrial fibrillation in rat heart. *EP Eur*. 1 aprile 2015;17(4):655–63.
182. Gentile P, Paldino A, Cannatà A, Artico J, Barbati G, Ramani F, et al. Left bundle branch block in dilated cardiomyopathy with intermediate left ventricular dysfunction: Clinical phenotyping and outcome correlates. *Int J Cardiol*. 1 marzo 2019;278:180–5.
183. Aleksova A, Carriere C, Zecchin M, Barbati G, Vitrella G, Di Lenarda A, et al. New-onset left bundle branch block independently predicts long-term mortality in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: data from the Trieste Heart Muscle Disease Registry. *EP Eur*. 1 ottobre 2014;16(10):1450–9.

184. Brandão M, Bariani R, Rigato I, Bauce B. Desmoplakin Cardiomyopathy: Comprehensive Review of an Increasingly Recognized Entity. *J Clin Med*. 2023;12(7).
185. Sen-Chowdhry Srijita, Syrris Petros, Prasad Sanjay K., Hughes Siân E., Merrifield Robert, Ward Deirdre, et al. Left-Dominant Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 16 dicembre 2008;52(25):2175–87.
186. Wang W, Murray B, Tichnell C, Gilotra NA, Zimmerman SL, Gasperetti A, et al. Clinical characteristics and risk stratification of desmoplakin cardiomyopathy. *EP Eur*. 1 febbraio 2022;24(2):268–77.
187. Merlo M, Zaffalon D, Stolfo D, Altinier A, Barbati G, Zecchin M, et al. ECG in dilated cardiomyopathy: specific findings and long-term prognostic significance. *J Cardiovasc Med*. 2019;20(7).
188. Bauce B, Basso C, Rampazzo A, Beffagna G, Daliento L, Frigo G, et al. Clinical profile of four families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by dominant desmoplakin mutations. *Eur Heart J*. 1 agosto 2005;26(16):1666–75.
189. Corrado D, Basso C. Arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy. *Heart*. 1 maggio 2022;108(9):733.
190. Cipriani A, Bauce B, De Lazzari M, Rigato I, Bariani R, Meneghin S, et al. Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy: Characterization of Left Ventricular Phenotype and Differential Diagnosis With Dilated Cardiomyopathy. *J Am Heart Assoc*. 3 marzo 2020;9(5):e014628.
191. Smith ED, Lakdawala NK, Papoutsidakis N, Aubert G, Mazzanti A, McCanta AC, et al. Desmoplakin Cardiomyopathy, a Fibrotic and Inflammatory Form of Cardiomyopathy Distinct From Typical Dilated or Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *Circulation*. 9 giugno 2020;141(23):1872–84.
192. Augusto JB, Eiros R, Nakou E, Moura-Ferreira S, Treibel TA, Captur G, et al. Dilated cardiomyopathy and arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy: a comprehensive genotype-imaging phenotype study. *Eur Heart J - Cardiovasc Imaging*. 1 marzo 2020;21(3):326–36.

193. Graziosi M, Ditaranto R, Rapezzi C, Pasquale F, Lovato L, Leone O, et al. Clinical presentations leading to arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy. *Open Heart*. 1 aprile 2022;9(1):e001914.