

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA
Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino

Direttore: Ch.mo Prof. Eugenio Baraldi

U.O.C. Cardiologia Pediatrica

Direttore: Ch.mo Prof. Giovanni Di Salvo

TESI DI LAUREA

RUOLO DELL'ECOCARDIOGRAFIA AVANZATA
NEL FOLLOW-UP DI PAZIENTI SOTTOPOSTI A
TRAPIANTO CARDIACO IN ETÀ PEDIATRICA

Relatore: Ch.mo Prof. Giovanni Di Salvo

Correlatrice: Dott.ssa Irene Cattapan

Laureanda: Martina D'Agnillo

Anno Accademico 2023-2024

Sommario

RIASSUNTO	1
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUZIONE.....	5
1.1 Trapianto cardiaco in età pediatrica.....	5
1.1.1 Epidemiologia.....	5
1.1.1.1 Situazione italiana	6
1.1.2 Indicazioni.....	6
1.1.3 Controindicazioni.....	9
1.1.3 Complicanze	10
1.1.3.1 Rigetto	10
1.1.3.2 CAV.....	13
1.1.3.3 Neoplasie.....	16
1.1.3.4 Infezioni	16
1.1.4 Supporto meccanico al circolo.....	17
1.1.5 Prognosi	18
1.1.6 Follow-up.....	20
1.2 Ecocardiografia	22
1.2.1 Ecocardiografia di base.....	23
1.2.1.1 Ventricolo sinistro	23
1.2.1.2 Ventricolo destro	25
1.2.1.3 Ruolo nella diagnosi di rigetto	26
1.2.2 Ecocardiografia avanzata	28
1.2.2.1 Speckle tracking e strain.....	28
1.2.2.2 Myocardial work.....	32
1.2.2.3 Ruolo nella diagnosi di rigetto.....	35
1.2.3 Ruolo nella diagnosi di CAV	38
2. SCOPI DELLO STUDIO	40
3. MATERIALI E METODI.....	41

3.1 Popolazione in esame	41
3.2 Disegno dello studio	41
3.3 Ecocardiografia di base	42
3.4 Ecocardiografia avanzata	42
3.5 Analisi statistica	43
4. RISULTATI	45
4.1 Caratteristiche della popolazione generale	45
4.2 Outcomes	48
4.2.1 Correlazione età – rigetto	50
4.3 Valori medi alla biopsia e post-biopsia	51
4.4 Ecocardiografia e rigetto	53
4.4.1 Confronto ecocardiografia e gruppi rigetto sì-no	53
4.4.2 Confronto ecocardiografia rigetto – post rigetto	55
4.4.3 Confronto ecocardiografia rigetto - no rigetto	55
4.4.4 Confronto fra ecocardiografia e grado di rigetto.....	58
4.5 Ecocardiografia nel follow-up longitudinale	59
4.5.1 Confronto fra ecocardiografia - outcomes compositi.....	59
4.5.2 Confronto assistenza ventricolare – outcomes compositi	63
4.5.3 Confronto fra ecocardiografia - rigetto	63
4.6 Ecocardiografia ed età	66
5. DISCUSSIONE	68
5.1 Caratteristiche della popolazione generale	68
5.2 Outcomes	69
5.3 Valori ecocardiografici medi	70
5.4 Ecocardiografia e rigetto	71
5.5 Ecocardiografia nel follow-up longitudinale	73

5.6 Ecocardiografia ed età.....	75
6. LIMITAZIONI.....	76
7. CONCLUSIONI.....	77
8. BIBLIOGRAFIA.....	78

RIASSUNTO

Presupposti dello studio. Il trapianto cardiaco in età pediatrica rappresenta l'unica strategia risolutiva per l'insufficienza cardiaca end-stage di varia eziologia. Fra le principali complicanze che si verificano nel post-trapianto, quelle che maggiormente impattano sulla prognosi sono il rigetto acuto e lo sviluppo della cardiac allograft vasculopathy (CAV). Pertanto, i pazienti cardiotrapiantati vengono sottoposti ad un follow-up a vita in cui è centrale il ruolo dell'ecocardiografia. Tuttavia, i parametri ecocardiografici convenzionali si sono dimostrati inadeguati nell'intercettare precocemente eventi avversi. Per tale motivo è crescente l'interesse verso le metodiche di ecocardiografia avanzata, sebbene attualmente non abbiano un ruolo standardizzato nel follow-up dei pazienti cardiotrapiantati. Ciononostante, nell'ottica di individuare marker non invasivi predittivi di eventi avversi, è promettente il ruolo di strumenti avanzati come lo Speckle tracking echocardiography (STE) e il Myocardial Work (MW).

Scopo dello studio. Gli obiettivi dello studio sono stati: a) valutare le caratteristiche demografiche e cliniche dei piccoli pazienti sottoposti a trapianto cardiaco e afferenti alla Cardiologia Pediatrica dell'Azienda Ospedaliera di Padova da gennaio 2008 a luglio 2024; b) confrontare i parametri di ecocardiografia avanzata fra la nostra popolazione pediatrica cardiotrapiantata e quella pediatrica sana; c) definire parametri ecocardiografici, convenzionali o avanzati, utili nel follow-up dei pazienti cardiotrapiantati e che siano predittivi di rigetto o outcomes in senso globale.

Materiali e metodi. Sono stati studiati, in maniera retrospettiva, 25 pazienti cardiotrapiantati da gennaio 2008 a luglio 2024 ed attivamente seguiti presso il servizio di Cardiologia Pediatrica dell'Azienda Ospedaliera di Padova. Per ogni paziente sono stati analizzati esami ecocardiografici seriati eseguiti nel corso del follow-up, in modo da ricostruire l'andamento nel tempo dei parametri eco per singolo paziente. Inoltre, sono stati analizzati anche gli esami ecocardiografici eseguiti in concomitanza con la biopsia endomiocardica ed un mese prima e dopo dalla stessa. Questo ha permesso di definire la relazione fra la biopsia, quindi l'eventuale rigetto, ed il quadro ecocardiografico. Per ogni valutazione sono stati ricavati i parametri ecocardiografici convenzionali e avanzati, fra cui il peak strain dispersion (PSD), lo strain longitudinale globale del ventricolo sinistro (GLS), lo strain della parete libera

e globale del ventricolo destro (RV-FWS, GS), il myocardial work (MW) e gli indici derivati.

Risultati. I principali risultati individuati dal nostro studio sono: a) dal confronto fra gruppi presenza-assenza di rigetto alla biopsia di riferimento è emerso che, al momento dell'episodio di rigetto, per quei pazienti che sono andati incontro a questo evento avverso, si è verificato un aumento significativo del PSD ($p=0,036$); b) i pazienti con un valore di GLS ad un mese dal trapianto significativamente diminuito sono maggiormente a rischio di sviluppare eventi avversi, dunque questo parametro è predittivo di outcomes compositi ($p=0,013$); c) il GCW e RV FWS sono gli unici indici di eco avanzato che peggiorano significativamente al momento dell'episodio di rigetto rispetto all'assenza dello stesso nel singolo paziente ($p=0,045$ e $p=0,032$, rispettivamente).

Conclusioni. Il nostro studio è il primo che esplora il ruolo di parametri ecocardiografici avanzati, quali il PSD e il MW, come predittori di rigetto acuto nei pazienti pediatrici sottoposti a trapianto cardiaco. Dal nostro studio emerge l'inadeguatezza dei soli parametri ecocardiografici convenzionali nel monitoraggio dei pazienti sottoposti a trapianto cardiaco. Al contrario, le tecniche ecocardiografiche avanzate come il 2D-STE e il MW mostrano un potenziale maggiore nel predire eventi avversi. Inoltre, dall'analisi dei dati si evince che in questi pazienti il confronto con dei valori cut-off di riferimento, o tra i diversi pazienti, è del tutto futile. L'unica valutazione predittiva è quella dell'andamento nel tempo dei parametri ecocardiografici avanzati nel singolo paziente. Tali metodiche, al fine di essere incluse routinariamente nella pratica clinica, necessitano tuttavia di ulteriore approfondimento.

ABSTRACT

Background. Pediatric heart transplantation represents the only decisive strategy for end-stage heart failure of various etiologies. Among the main complications occurring in the post-transplant period, those with the greatest impact on prognosis are acute rejection and the development of cardiac allograft vasculopathy (CAV). Therefore, heart transplant patients undergo lifelong follow-up in which the role of echocardiography is central. However, conventional echocardiographic parameters have proven inadequate in early detection of adverse events. For this reason, there is growing interest in advanced echocardiography methods, although they currently have no standardized role in the follow-up of heart transplant patients. Nevertheless, with a view to identifying non-invasive markers predictive of adverse events, the role of advanced tools such as Speckle tracking echocardiography (STE) and Myocardial Work (MW) is promising.

Purpose. The aims of the study were: a) to evaluate the demographic and clinical characteristics of pediatric patients who underwent heart transplantation and were referred to the Pediatric Cardiology Department of the Padua Hospital from January 2008 to July 2024; b) to compare advanced echocardiography parameters between our pediatric heart transplant population and healthy pediatric subjects; c) to define conventional or advanced echocardiographic parameters that are useful in the follow-up of heart transplant patients and that can predict acute rejection or overall outcomes.

Materials and methods. Twenty-five heart transplant patients, actively followed by the Pediatric Cardiology service at the Padua Hospital, were retrospectively studied from January 2008 to July 2024. Serial echocardiographic exams performed during follow-up were analyzed for each patient to reconstruct the time course of echocardiographic parameters for individual patients. Additionally, echocardiographic exams performed in conjunction with endomyocardial biopsy, as well as one month before and after the biopsy, were also analyzed. This allowed the definition of the relationship between biopsy, and thus potential rejection, and the echocardiographic findings. For each evaluation, conventional and advanced echocardiographic parameters were obtained, including peak strain dispersion (PSD), global longitudinal strain of the left ventricle (GLS), strain of the free wall and global

strain of the right ventricle (RV-FWS, GS), myocardial work (MW), and derived indices.

Results. The main findings identified by our study are: a) the comparison of the presence-absence of rejection groups at reference biopsy showed that at the time of the rejection episode, for those patients who experienced this adverse event, there was a significant increase in PSD ($p=0.036$); b) patients with a significantly decreased GLS value at one month after transplantation are at higher risk of developing adverse events, making this parameter predictive of composite outcomes ($p=0.013$); c) GCW and RV FWS are the only advanced echocardiographic indices that significantly worsen at the time of a rejection episode compared to its absence in the same patient ($p=0.045$ and $p=0.032$, respectively).

Conclusions. Our study is the first to explore the role of advanced echocardiographic parameters, such as PSD and MW, as predictors of acute rejection in pediatric heart transplant patients. Our findings highlight the inadequacy of conventional echocardiographic parameters in monitoring heart transplant patients. In contrast, advanced echocardiographic techniques like 2D-STE and MW show greater potential in predicting adverse events. Furthermore, analysis of the data shows that comparison with reference cut-off values, or between different patients, is completely futile in these patients. The only predictive evaluation is the trend over time of the advanced echocardiographic parameters in the individual patient. However, these methods require further investigation before they can be routinely incorporated into clinical practice.

1. INTRODUZIONE

1.1 Trapianto cardiaco in età pediatrica

Il primo trapianto cardiaco in età pediatrica fu eseguito nel dicembre del 1967 dal Dottor Adrian Kantrowitz, negli Stati Uniti, su un neonato con una malformazione di Ebstein della valvola tricuspide, tre giorni dopo il primo trapianto cardiaco in un adulto. L'operazione è stata condotta senza l'utilizzo di una macchina cuore-polmone, ma in ipotermia profonda (17 gradi). Il neonato, di solo 19 giorni, morì 6 ore dopo l'operazione per acidosi metabolica e respiratoria severa(1). Da allora molta strada è stata fatta e il trapianto è diventato lo standard di cura per lo scompenso cardiaco terminale nel bambino. Questo approccio rimane tuttavia limitato per la scarsa disponibilità di organi da trapiantare. Pertanto, rispetto alla popolazione adulta, risulta più complicato acquisire le informazioni necessarie per sviluppare nuove pratiche e studiare gli effetti di nuovi approcci diagnostici o terapeutici sugli outcomes di questi pazienti.

1.1.1 Epidemiologia

La fonte principale di dati multicentrici è il registro della Società Internazionale di Trapianto di Cuore e Polmone (ISHLT). Fondata nel 1983, raccoglie i dati sui trapianti di cuore e/o polmone di tutti i centri afferenti nel mondo. I dati più recenti mostrano che nel 2017 ci sono stati 117 centri afferenti che effettuano trapianti cardiaci in età pediatrica nel mondo, di cui 40 in Europa. Considerando il numero dei trapianti effettuati fra il 2010 e il 2018, la frequenza di trapianti cardiaci varia notevolmente fra i diversi centri: si registrano 154 centri che effettuano una media di 1-4 trapianti per anno, 35 centri con una media di 5-9 trapianti per anno e infine 21 centri che effettuano mediamente più di 10 trapianti annuali(2). Gli ultimi dati epidemiologici mostrano che annualmente, dal 2005 al 2018, sono stati eseguiti in media 592 trapianti, di cui circa 150 in Europa(3). Complessivamente, da gennaio 1992 a giugno 2017 sono stati effettuati 11909 trapianti cardiaci pediatrici di cui 3192 in Europa. Si registra, inoltre, una tendenza in aumento nel numero dei trapianti nell'era 2010-2017 rispetto alle precedenti(4). Valutando l'età dei pazienti riceventi il trapianto, si delinea

una distribuzione bimodale: un primo picco nei bambini di età inferiore ad un anno, seguito da un secondo picco nella fascia d'età 14-17(5).

1.1.1.1 Situazione italiana

I dati epidemiologici italiani derivano dal Sistema Informativo Trapianti del Centro Nazionale Trapianti. La popolazione analizzata è relativa ai soli centri trapianto che presentano un volume di attività pediatrica complessiva di almeno 15 trapianti. Nell'era 2000-2021 sono stati effettuati complessivamente in Italia 460 trapianti di cuore pediatrici, con una media annuale di 21 trapianti(6). L'Azienda Ospedaliera di Padova si attesta come un centro di riferimento importante per l'attività trapiantologica dei piccoli pazienti: ha effettuato, complessivamente nell'era 2000-2021, 44 trapianti di cuore pediatrici, con una media annua di 2 trapianti(6). Inoltre, dai dati statistici si evince che i pazienti pediatrici cardiotrapiantati in AOPD appartengano prevalentemente alla fascia d'età 11-17 (55%) e che l'intervento avvenga principalmente in urgenza (61%). I casi di ritrapianto sono limitati al 2%(6).

1.1.2 Indicazioni

Il trapianto cardiaco in età pediatrica rappresenta l'unica strategia risolutiva all'insufficienza cardiaca di varia eziologia, con potenziale o attuale disfunzione d'organo end-stage. Il piccolo paziente deve essere candidato al trapianto cardiaco quando l'aspettativa di vita predetta è inferiore al tempo di vita medio di un cuore trapiantato(7). Le indicazioni al trapianto cardiaco differiscono per fascia d'età dei piccoli pazienti. Secondo l'ultimo report del registro dell'ISHLT, nell'era 2010-2018, la principale indicazione al trapianto cardiaco pediatrico nei bambini di età inferiore all'anno sono le cardiopatie congenite; nella fascia 1-5 anni d'età, le indicazioni sono pressoché pari in numero fra cardiopatie congenite e cardiomiopatie (41% e 43%, rispettivamente); infine, nella fascia d'età 6-17 anni l'indicazione principale rimangono le cardiomiopatie. Si noti come la tipologia di cardiomiopatia più frequente sia quella dilatativa e che i casi di ritrapianto d'organo siano limitati (Figura 1)(8).

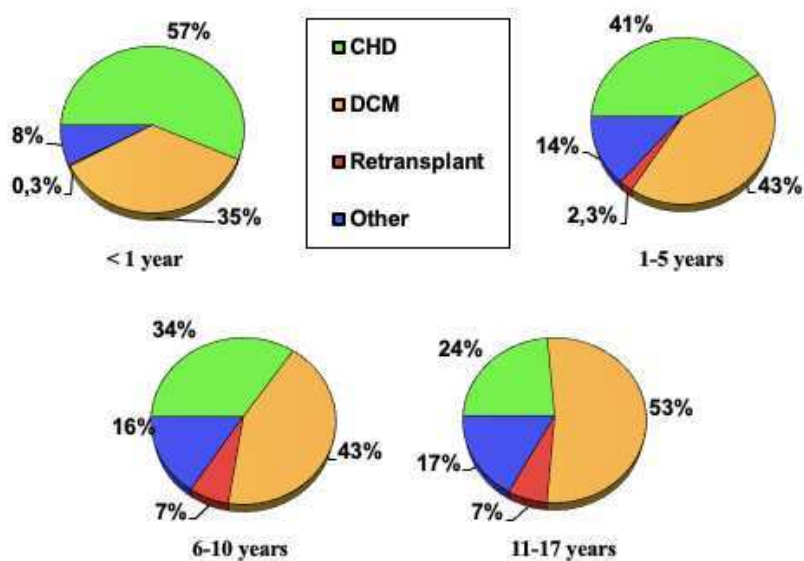


Figura 1. Indicazioni per fasce d'età per trapianti cardiaci effettuati fra il 2010 e il 2018. CHD, Congenital Heart Disease; DCM, Dilated Cardiomyopathy; Dal registro dell'ISHLT(8).

I progressi continui nelle tecniche chirurgiche si riflettono nella ridefinizione della popolazione di pazienti con cardiopatie congenite che vengono sottoposti a trapianto cardiaco. Questa popolazione include bambini con cardiopatie congenite complesse non trattate e bambini e adulti con cardiopatie congenite complesse il cui trattamento palliativo è andato incontro a fallimento o a disfunzione ventricolare(9). Pertanto, al momento, il trapianto cardiaco è indicato in pazienti con cardiopatia congenita complessa che vanno incontro a insufficienza cardiaca acuta, che sono refrattari al trattamento medico ottimale, e non candidabili a trattamento chirurgico riparativo o palliativo(10). I cuori univentricolari rappresentano circa il 75% delle diagnosi dei pazienti sottoposti a trapianto cardiaco pediatrico per CHD(11). Inoltre, un terzo di questi pazienti è rappresentato da *failed Fontan* e la principale diagnosi è la sindrome del cuore sinistro ipoplasico (HLHS)(11,12). A fronte di notevoli progressi nella palliazione di pazienti con HLHS, il 30% di questi muoiono durante il primo anno e la sopravvivenza, in assenza di trapianto, si attesta al 64% a 3 anni d'età. Nonostante ciò, la scarsa disponibilità d'organo e la mortalità nell'immediato post-trapianto, rendono necessari gli interventi palliativi come prima linea di trattamento, con eccezione dei pazienti con severa disfunzione ventricolare o insufficienza valvolare

grave(12). In ogni caso, HLHS rappresenta ancora la diagnosi più comune nei pazienti che vanno incontro a trapianto cardiaco ortotopico per cardiopatia congenita.

Come precedentemente illustrato, le cardiomiopatie rappresentano, complessivamente, la prima indicazione al trapianto cardiaco in età pediatrica quando evolvono verso un quadro di insufficienza d'organo end-stage; queste comprendono la cardiomiopatia dilatativa (DCM), ipertrofica (HCM) e restrittiva (RCM). I fenotipi dilatativo ed ipertrofico sono responsabili di circa il 50% e 25%, rispettivamente, delle cardiomiopatie in età pediatrica. Il fenotipo restrittivo risulta invece raro(13). Dati provenienti dal Registro delle Cardiomiopatie Pediatriche (PCMR) suggeriscono che il 66% dei casi di DCM in età pediatrica abbia un'etiologia idiopatica. Fra le cause note, le miocarditi sono le più comuni (46%), seguite da malattie neuromuscolari (26%), DCM familiare (14%) malattie metaboliche (11%) e sindromi malformative (3%)(14). Nell'era attuale, si riscontra un substrato genetico in circa 1/3 dei casi di DCM: recentemente, anche forme di DCM precedentemente associate a fattori esclusivamente endogeni, sembrerebbero in realtà essere associate ad un substrato genetico; tale meccanismo sembrerebbe essere alla base di DCM indotta da chemioterapia e, nel contesto pediatrico, è particolarmente rilevante il trattamento con antracicline(13). L'outcome post-chirurgico dei pazienti trapiantati con DCM è eccellente, con una sopravvivenza a 1 anno del 94% (15). Parimenti, la HCM può essere idiopatica, familiare, associata a malattie neuromuscolari o con sindromi malformative. Questi pazienti sono a rischio di sviluppo di aritmie maligne e morte cardiaca improvvisa, ma recenti studi dimostrano che l'insufficienza cardiaca rappresenta una causa di morte altrettanto importante rispetto alle precedenti(9). Nonostante ciò, HCM rimane ancora un'etiologia minoritaria per il trapianto cardiaco pediatrico. La cardiomiopatia restrittiva rappresenta la forma più rara in età pediatrica, rendendo conto solo del 3% dei casi. Tuttavia, questi pazienti presentano una prognosi infausta con probabilità di sopravvivenza in assenza di trapianto dell'80% e 20% a 1 e 10 anni, rispettivamente(16).

Come riportato dal Centro Nazionale Trapianti, in Italia le indicazioni al trapianto riflettono quelle mondiali: di fatto, le cardiomiopatie rendono conto di più del 50% delle diagnosi all'iscrizione in lista trapianti di cuore dei piccoli pazienti nell'era 2000-2021. Anche a livello nazionale la cardiomiopatia dilatativa rappresenta la prima indicazione, seguita dalle cardiopatie congenite (Tabella I)(6).

Categoria diagnosi	TRAPIANTI	
	N	%
CARDIOMIOPATIA DILATATIVA STD	189	41,1%
CARDIOMIOPATIA FENOTIPO IPERTROFICA/RESTRITTIVO	62	13,5%
CONGENITI	125	27,2%
CORONAROPATIE (ISCHEMICI)	6	1,3%
MIOCARDITE	27	5,9%
RITRAPIANTO/RIGETTO	9	2,0%
ALTRA MALATTIA CARDIOCIRCOLATORIA	42	9,1%
Totale complessivo	460	100,0%

Tabella I: Distribuzione delle categorie di diagnosi all'iscrizione in lista per trapianto di cuore su pazienti pediatrici. Periodo 2000-2021(6).

1.1.3 Controindicazioni

Le controindicazioni al trapianto cardiaco pediatrico sono state perlopiù dedotte dalla popolazione adulta. In linea generale, al fine di preservare gli organi trapiantati, i riceventi devono essere liberi da qualsiasi irreversibile e non cardiaca condizione che possa, in qualche modo, diminuire l'aspettativa di vita del trapianto. Nella Tabella II sono riportate tutte le principali controindicazioni al trapianto.

Criteria to decline listing for heart transplantation
Active malignancy
Active infection/sepsis
Medical noncompliance/failure of self-management
Active substance abuse
End-organ injury ^a
Elevated PVRI, nonreactive ^a
Obesity (BMI > 35 kg/m ²)
Psychosocial concern
Cerebrovascular injury/devastation
High risk for infection
Peptic ulcer disease
Patient does not meet indication
Patient/family does not desire transplantation
Other

Tabella II: controindicazioni al trapianto(7).

In particolare, è necessario prestare attenzione ai pazienti che presentano un'infezione o un cancro in fase attiva, in virtù dell'immunosoppressione a cui andranno incontro questi pazienti nel post-trapianto. Pregresse infezioni virali non costituiscono una

controindicazione, tuttavia un aumento del monitoraggio o terapia profilattica potrebbero essere richieste in virtù dell'aumentato rischio di malattia severa in seguito a riattivazione, come nei casi di CMV e EBV(17). In accordo con le linee guida dell'ISHLT, un valore di resistenze vascolari polmonari (PVR) superiore a 6 WU, refrattario al trattamento medico, dovrebbe essere considerato come una controindicazione al trapianto cardiaco, a causa del rischio di insufficienza ventricolare destra post-trapianto(18). Tuttavia, recenti studi hanno dimostrato che l'utilizzo dell'assistenza meccanica al circolo permette di abbassare le PVR in adulti e bambini, diminuendo dunque il grado di ipertensione polmonare e rendendo il paziente candidabile al trapianto(19,20).

1.1.3 Complicanze

1.1.3.1 Rigetto

Il rigetto acuto rappresenta una significativa causa di morbidità e mortalità post-trapianto ed il rischio di sviluppo di questa complicanza risulta essere particolarmente alto durante il primo anno post-chirurgico(21). Il management di questa complicanza è sicuramente migliorato nel tempo: l'ultimo report dell'ISHLT rivela una tendenza in diminuzione nella percentuale di pazienti trattati per rigetto acuto, dal momento della dimissione ad un anno post-trapianto, nell'epoca 2010-2018 rispetto all'epoca precedente 2005-2009(8). Secondo la tempistica con cui si manifesta, il rigetto può essere distinto in: iperacuto, nell'immediato post-trapianto; acuto, nelle settimane e mesi successivi; cronico, nei mesi e anni successivi. In generale, si distinguono due tipologie di questo processo: rigetto acuto cellulare (ACR) e rigetto mediato da anticorpi (AMR). Il meccanismo fisiopatologico alla base dell'ACR vede le cellule T come mediatrici del processo, con conseguente infiltrazione del miocardio. Questa conduce ad una infiammazione più o meno estesa che risulta in necrosi e apoptosi(22). L'AMR, detto anche rigetto umorale, è il risultato della pre-sensibilizzazione, o con meccanismo de novo, da parte del ricevente nei confronti degli antigeni del donatore. È mediato dalle cellule B e si manifesta come edema interstiziale, necrosi dei miociti, invasione della parete vascolare delle coronarie, con conseguente infiammazione endoteliale,

proliferazione e fibrosi. Questo comporta una diminuzione della perfusione distale, riflettendo un quadro di *cardiac allograft vasculopathy* (CAV) (22,23). Il gold standard diagnostico è l'esecuzione della biopsia endomiocardica (EMB) e la valutazione istopatologica. La società internazionale per il trapianto di cuore e polmone ha definito i criteri di classificazione istologica del rigetto, che correlano con la severità del quadro e l'eventuale trattamento da intraprendere.

Il ACR viene classificato in:

- Rigetto di basso grado: comprende il quadro 0R, rigetto assente, e 1R, rigetto lieve; viene richiesto il trattamento solo se il paziente risulta essere sintomatico o con equivalenti sintomatologici, come nel caso di disfunzione ventricolare destra o sinistra evidenziata ecocardiograficamente(23,24).
- Rigetto di alto grado: comprende il quadro 2R, rigetto moderato, e 3R, rigetto severo. Il trattamento viene richiesto anche in caso di paziente asintomatico e la prima linea di trattamento prevede la somministrazione di corticosteroidi IV. In aggiunta, deve essere somministrata la terapia immunosoppressiva con anticorpi anti-timociti, soprattutto nel caso in cui sia presente compromissione emodinamica e se non c'è miglioramento clinico, entro 12-24h ore, con la sola terapia corticosteroidica(23,24).

Il AMR viene classificato in base al riscontro istologico e immunopatologico. Quest'ultimo viene valutato in relazione ad un pannello di anticorpi che riflettono il grado di infiltrazione intravascolare, la deposizione degli anticorpi e l'attivazione del complemento. Pertanto, si distinguono le seguenti categorie(25):

- pAMR 0: assenza di rigetto;
- pAMR 1 (H+): AMR con reperti esclusivamente a livello istologico;
- pAMR 1 (I+): AMR con reperti esclusivamente a livello immunopatologico;
- pAMR 2: AMR con reperti a livello istologico e immunopatologico;
- pAMR 3: AMR severo con reperti a livello istologico e immunopatologico;

Il trattamento dell'AMR sintomatico si avvale delle seguenti strategie: soppressione delle cellule T, attraverso terapia corticosteroidea, anticorpi anti-timociti, inibitori della calcineurina (tacrolimus/ciclosporina) oppure micofenolato mofetile; rimozione/blocco degli anticorpi, attraverso plasmaferesi o somministrazione di immunoglobuline intravenose; deplezione dei linfociti B, tramite somministrazione di Rituximab; deplezione delle plasmacellule, somministrando bortezomib; inibizione del complemento, attraverso somministrazione di eculizumab(26).

Nei pazienti che presentano AMR alla EMB di sorveglianza, in assenza di sintomi e di disfunzione d'organo, è consigliato valutare l'adeguatezza del livello di immunosoppressione del paziente e, eventualmente, somministrare terapia corticosteroidea. Di fatto, recenti evidenze dimostrano che AMR cronico e subclinico sia associato ad un incremento nello sviluppo di CAV, dunque della mortalità(27,28). Secondo le linee guida ISHLT, il paziente che presenta un rigetto acuto deve essere poi sottoposto alla EMB di controllo fra le 2-4 settimane successive all'inizio del trattamento(23).

Alla luce di quanto appena descritto, i pazienti sottoposti a trapianto cardiaco pediatrico vanno sempre più frequentemente incontro a terapia immunosoppressiva d'induzione nell'immediato post-operatorio. Tuttavia, al momento, non si registra una standardizzazione dei protocolli e non è completamente chiaro il ruolo della stessa sugli outcomes a lungo termine di questi pazienti. Ciononostante, è stata dimostrata una riduzione nei tassi di rigetto acuto, a fronte di una sopravvivenza a lungo termine simile fra i pazienti sottoposti e non ad induzione(29). L'agente più frequentemente utilizzato nella terapia d'induzione nei trapianti cardiaci pediatrici è la globulina antitimocitaria (ATG), un anticorpo policlonale che induce una deplezione di cellule T. Alla terapia d'induzione segue quella di mantenimento. Il gold standard per quest'ultima è rappresentato dalla combinazione di: un inibitore della calcineurina (tacrolimus/ciclosporina), un agente antiproliferativo (micofenolato mofetile) e corticosteroidi(30). Lo svezzamento da steroidi è consigliato, con cautela, nei pazienti a basso rischio immunologico.

1.1.3.2 CAV

La *cardiac allograft vasculopathy* è una vasculopatia secondaria a un processo fibroproliferativo diffuso che inizialmente risulta in un restringimento concentrico delle arterie coronariche epicardiche, delle vene coronariche e della microcircolazione; con l'avanzare del processo, si verifica stenosi focale luminale. Nonostante gli importanti progressi nella gestione del paziente pediatrico sottoposto a trapianto cardiaco, la CAV rimane un'importante causa di mortalità e morbilità. Rappresenta, inoltre, la prima causa di morte oltre tre anni dal trapianto(21). L'incidenza della CAV aumenta progressivamente a seguito dell'intervento chirurgico e si stima che l'incidenza a 5, 10 e 15 anni post-trapianto sia del 13%, 35% e 54% rispettivamente(31); nonostante ciò, nell'era più recente (2005-2017) si è verificata una *freedom from CAV* più favorevole rispetto alla precedente (1995-2004)(2). Uno studio della Pediatric Heart Transplant Society (PHTS) ha analizzato i dati di 751 bambini sottoposti a coronarografia post-trapianto di cuore e sono stati delineati i seguenti fattori di rischio per sviluppo di CAV: età avanzata del donatore, età avanzata del ricevente e due o più episodi di rigetto nel primo anno post-chirurgico(32). Come precedentemente sottolineato, sono particolarmente a rischio di sviluppare CAV quei pazienti che vanno incontro a AMR e che presentano, dunque, outcomes peggiori a livello cardiovascolare. Da un punto di vista fisiopatologico, la CAV si configura come un processo cronico coinvolgente meccanismi immuni e non immuni non completamente definiti. Lo stimolo immunologico iniziale consiste in una reazione, cellulare e/o umorale, ai danni dell'endotelio dei vasi coronarici del donatore con conseguente infiammazione e apoptosi. I fattori non immunologici che prendono parte al processo patogenetico sono perlopiù conseguenza, soprattutto in ambito pediatrico, della terapia immunosoppressiva e sono: iperlipidemia, intolleranza glucidica/diabete ed ipertensione(33). Il quadro risultante a livello istologico è variabile, ma la caratteristica distintiva è l'iperplasia fibromuscolare concentrica dell'intima, che condurrà negli stadi più avanzati a stenosi luminale focale più o meno importante, e relativa preservazione dello strato muscolare medio(33) (figura 2).

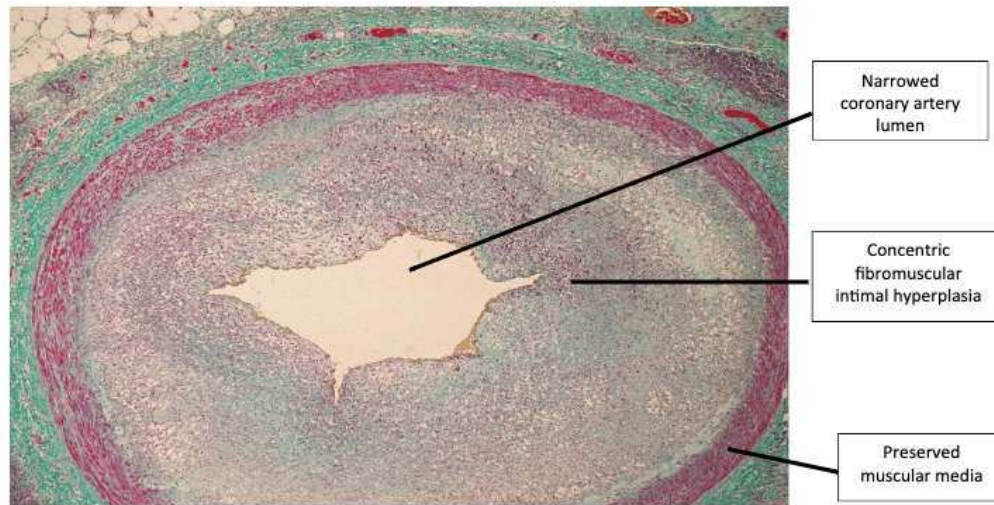


Figura 2: istologia di un'arteria coronaria affetta da CAV (33).

Sulla base delle caratteristiche istologiche e di limitazione funzionale, l'ISHLT ha distinto la CAV in differenti categorie:

- CAV 0: no lesioni angiografiche;
- CAV 1: lesioni angiografiche di lieve entità;
- CAV 2: lesioni angiografiche di moderata entità;
- CAV 3: lesioni angiografiche severe;

Un aspetto importante da sottolineare è la clinica del paziente con CAV. Questa può essere molto variabile, ma bisogna considerare che il paziente sottoposto a trapianto cardiaco ortotopico subisce una incompleta o assente re-innervazione del nuovo organo ricevuto. Pertanto, la tipica sintomatologia clinica associata all'ischemia miocardica o all'infarto, come il dolore toracico, può essere assente(33). Di fatto, spesso il primo sintomo risulta essere la morte improvvisa e sembra che la CAV giochi un ruolo fondamentale in questo contesto. Inoltre, il paziente può clinicamente presentarsi con segni e/o sintomi di disfunzione d'organo e compromissione emodinamica; in questi casi, la diagnosi differenziale con il rigetto impone l'esecuzione di una EMB(34). Per quanto riguarda la diagnosi di CAV il gold standard è rappresentato dall'angiografia coronarica, metodica altamente specifica ma poco sensibile in età pediatrica. Infatti, lo sviluppo di questa complicanza è generalmente lento

e insidioso, con cronica iperplasia e disfunzione endoteliale che non sono facilmente identificate attraverso questa metodica invasiva(33). Motivo per cui, soprattutto negli stadi iniziali, questa condizione è sottodiagnosticata. Sfortunatamente, quando la CAV è angiograficamente evidente, la mortalità a breve termine è alta e la morte improvvisa è frequente (35,36). Per tali motivi, soprattutto nel paziente adulto cardiotrapiantato, l'angiografia coronarica è affiancata ad altre metodiche quali l'ecografia intravascolare (IVUS) e la tomografia ottica computerizzata (OCT). Queste indagini invasive permettono di valutare con maggiore sensibilità l'iperplasia dell'intima nella CAV precoce e, dunque, la dimensione del lume e la morfologia della placca; molteplici studi hanno dimostrato che nei pazienti che presentano un ispessimento dell'intima alla IVUS, a fronte di una valutazione angiografica negativa per CAV, si verificano esiti clinici peggiori(23). Tuttavia, esistono delle limitazioni rilevanti per entrambe le metodiche: elevato costo dei cateteri, disponibilità limitata, necessità di anticoagulazione, rischi intrinseci della procedura, valutazione limitata ai maggiori vasi epicardici e alle dimensioni dei vasi del paziente; quest'ultimo aspetto è quello maggiormente limitante in ambito pediatrico(23). Una volta che la diagnosi di CAV è stata confermata, non esiste alcun trattamento, medico ed interventistico, in grado di regredire tale condizione. Gli unici due trattamenti farmacologici che hanno dimostrato un ruolo benefico nei confronti dello sviluppo della CAV sono la terapia d'induzione e l'utilizzo delle statine (33). Anche il ruolo della rivascolarizzazione percutanea è marginale in questo contesto: l'esperienza in ambito pediatrico ha dimostrato che è una valida alternativa a breve termine, nei pazienti con significative stenosi locali, ma non è una valida soluzione a lungo termine per preservare l'organo(21). Pertanto, allo stato attuale, in presenza di CAV severa l'unica alternativa risolutiva è il ritrapianto. Dal report del ISHLT si evince che, di fatto, la CAV severa rende conto di circa il 60% delle diagnosi dei pazienti sottoposti a ritrapianto(37) e che la sopravvivenza post-ritrapianto per tale indicazione risulta essere più favorevole rispetto ad altre indicazioni (2).

1.1.3.3 Neoplasie

La quasi totalità delle neoplasie che si sviluppano nei bambini sottoposti a trapianto cardiaco sono linfomi. Questa casistica si discosta fortemente da quella dell'adulto, in cui sono molto più frequenti i tumori della pelle e i linfomi costituiscono una percentuale marginale (23). Inoltre, nella popolazione pediatrica, questa complicanza è molto meno frequente rispetto alla popolazione adulta: rispettivamente, si registra un'incidenza del 10% e del 28% a 10 anni dal trapianto (2,3). La malattia linfoproliferativa post-trapianto (PTLD), spesso relazionata all'infezione da Epstein-Barr virus (EBV) e con origine dalle cellule B, è la più frequente neoplasia in pazienti pediatrici riceventi (23). Dati provenienti dal PHTS individuano come fattori di rischio per lo sviluppo di PTLD l'età compresa fra 1 e 10 anni e EBV mismatch fra il donatore, positivo, e il ricevente, negativo(38). Nonostante sia noto il ruolo dell'immunosoppressione nello sviluppo di neoplasie, non sussiste alcuna associazione fra la terapia d'induzione e lo sviluppo di PTLD (23). In ogni caso, la sopravvivenza dei piccoli pazienti con PTLD è alta ed è relazionata all'efficienza del trattamento: in prima linea, si riduce l'immunosoppressione; se non sufficiente, si procede con somministrazione di rituximab in monoterapia ed eventualmente in associazione a chemioterapia (39)

1.1.3.4 Infezioni

Nei pazienti pediatrici sottoposti a trapianto cardiaco, le infezioni, in particolare ad eziologia batterica, sono responsabili del 14% dei decessi nel primo anno e rimangono una delle 5 principali cause di morte negli anni successivi(40). Nel primo mese post-trapianto, i patogeni più comuni sono gli stafilococchi coagulasi negativi seguiti da *Enterobacter* sp e *Pseudomonas* sp. Nel successivo periodo post-trapianto, le infezioni più comunemente riscontrate sono quelle acquisite in comunità come *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* (21). Fattori di rischio associati ad una maggiore probabilità di acquisire infezioni batteriche sono l'utilizzo di ventilatori ed ECMO al momento del trapianto, nonché la maggior suscettibilità dei piccoli

pazienti. Citomegalovirus (CMV) è la più frequente infezione virale post-trapianto ed è stato dimostrato il suo ruolo nel rigetto acuto, nello sviluppo di CAV e PTLD. Altre comuni infezioni virali includono EBV, Herpes Simplex Virus (HSV), Varicella Zoster Virus (VZV) e virus influenzali(9).

1.1.4 Supporto meccanico al circolo

Pazienti con insufficienza cardiaca refrattaria al trattamento medico ottimale, con instabilità emodinamica e/o disfunzione d'organo severa, dovrebbero essere candidati per l'utilizzo di supporto meccanico al circolo (MCS). I dispositivi di assistenza ventricolare (VAD) possono essere intra od extracorporei, con flusso pulsatile o continuo, designati per supporto a breve o lungo termine. Al di là dello specifico dispositivo, la caratteristica comune è quella di avere una cannula di inflow e una di outflow che possono essere valutate ecograficamente. L'uso del VAD nei pazienti pediatrici per il trattamento dell'insufficienza cardiaca avanzata è aumentato significativamente nell'era recente, superando l'utilizzo dell'ECMO, e rappresentando la forma più comune di MCS come bridge al trapianto. La percentuale di piccoli pazienti con MCS come bridge al trapianto è passata dal 25% nel 2010 al 36% nel 2019, permettendo di diminuire la mortalità in lista d'attesa(23). Dall'analisi del report del ISHLT del 2019, l'utilizzo del MCS differisce per età e per indicazione al trapianto cardiaco. Complessivamente, come mostrato in figura 3, risulta maggiore il numero di pazienti con DCM che arrivano al trapianto supportati da assistenza ventricolare rispetto ai pazienti con CHD. Solo il 12% degli infanti con CHD sono stati condotti al trapianto con MCS e, in questi pazienti, l'ECMO è utilizzato con la stessa frequenza del VAD. Questo dato è in contrasto con oltre il 50% dei bambini di maggior età con DCM supportati con MCS pre-trapianto, in cui l'ECMO rappresenta una scelta in meno del 3% dei pazienti(2).

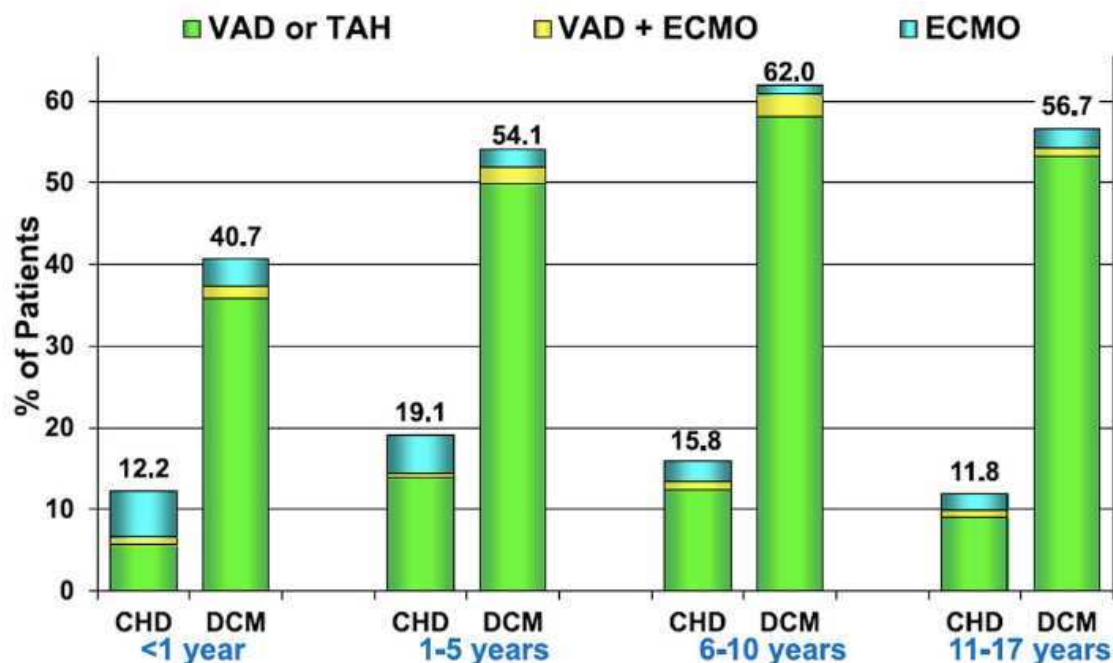


Figura 3: analisi dei pazienti condotti a trapianto cardiaco con assistenza meccanica al circolo per gruppo d'età e diagnosi (trapianti da gennaio 2010 a giugno 2018). Dal registro del ISHLT (2).

Un aspetto interessante riguarda l'impatto sulla sopravvivenza dell'assistenza meccanica al circolo pre-trapianto: l'utilizzo del VAD o del cuore artificiale totale (TAH) non impatta in maniera statisticamente significativa sulla prognosi di questi pazienti; al contrario, l'utilizzo dell'ECMO come bridge al trapianto è associato ad una riduzione della sopravvivenza(2).

1.1.5 Prognosi

I dati più recenti circa la sopravvivenza dei piccoli pazienti sottoposti a trapianto cardiaco provengono dall'ultimo report del ISHLT del 2019. Sono stati quindi determinati i tassi di sopravvivenza a 25 anni post-trapianto (figura 4): la sopravvivenza globale media si attesta a più di 18 anni, con i tassi più favorevoli registrati nei bambini sottoposti a trapianto durante il primo anno di vita (sopravvivenza media di 24,5 anni) e quelli più sfavorevoli nei bambini sottoposti a trapianto fra gli 11 e 17 anni (sopravvivenza media di 14,3 anni) (2). Per quanto

riguarda le fasce intermedie, la sopravvivenza dei bambini sottoposti a trapianto cardiaco fra 1-5 anni e fra 6-10 anni sono di 20,2 e 15,9 anni rispettivamente. (2)

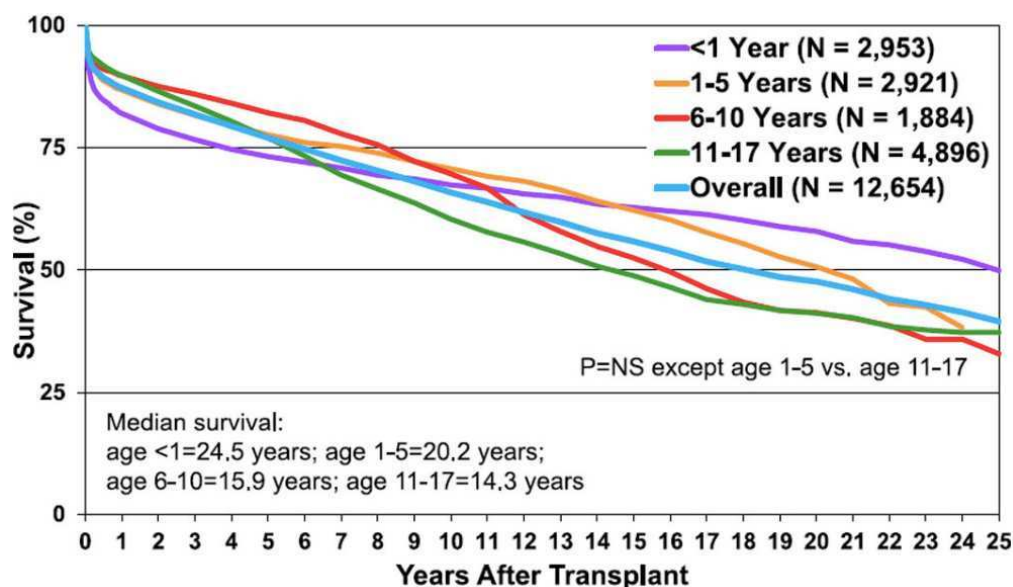


Figura 4: sopravvivenza per anno d'età del ricevente al trapianto (trapianti da gennaio 1992 a giugno 2017). Dal registro del ISHLT (2).

Il picco del rischio di morte si raggiunge nell'immediato post-trapianto: di fatto, i riceventi che sopravvivono ad un anno post-trapianto hanno eccellenti tassi di sopravvivenza a lungo termine(41). Si registra che il tasso di sopravvivenza a 25 anni dei pazienti sottoposti a trapianto cardiaco in infanzia, che sopravvivono al primo anno post trapianto, è del 60 % (2). Facendo un confronto fra ere, si evidenzia una differenza statisticamente significativa fra la sopravvivenza: in epoca più recente i pazienti trapiantati hanno sopravvivenze migliori rispetto alle precedenti; nonostante ciò, l'intensità di questo effetto è diminuito nel tempo e non è evidente per tutti i gruppi d'età (21). Esistono delle differenze nei tassi di sopravvivenza a seconda della diagnosi pre-trapianto: in linea generale, si verifica una sopravvivenza più favorevole nei pazienti candidati a trapianto per cardiomiopatia dilatativa rispetto ai pazienti candidati per cardiopatie congenite o sottoposti a ritrapianto (2,21). Le principali cause di morte in questa popolazione sono la disfunzione d'organo trapiantato (graft failure), rigetto acuto, infezioni e CAV. Come riportato nella figura 5, il graft failure

rappresenta la principale causa di morte a prescindere dal periodo analizzato; al contrario, la CAV diventa un'importante causa di morte a 3 anni dal trapianto(7).

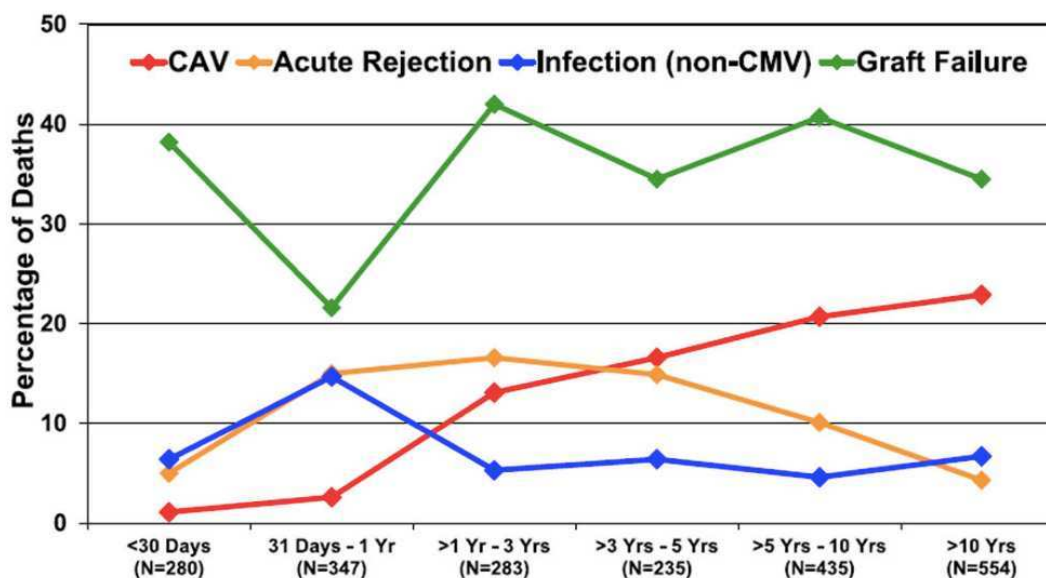


Figura 5: incidenza delle principali cause di morte per era post-trapianto (decessi da gennaio 2005 a giugno 2018). Dal registro del ISHLT. (2)

1.1.6 Follow-up

I test di routine e le visite cliniche sono cruciali per il successo a breve e lungo termine del trapianto cardiaco. Lo scopo del follow-up, a cui il paziente trapiantato viene sottoposto per tutta la vita, è monitorare l'insorgenza di eventi avversi e dovrebbe includere: visita clinica per la valutazione fisica del paziente, revisione della terapia ed eventuali cambiamenti, esami ematochimici, ECG, ecocardiogramma, test da sforzo cardiopolmonare, cateterismo cardiaco e biopsia endomiocardica. Nonostante l'importanza della gestione a lungo termine, non esiste al momento alcuna standardizzazione circa le tempistiche della valutazione del paziente. In più, i protocolli di sorveglianza sono lacunosi in particolar modo per l'età pediatrica. Ne deriva una grande differenza nella gestione dei pazienti fra i centri, soprattutto per le metodiche invasive. L'analisi globale dei protocolli dei differenti centri dimostra che, mediamente e nel primo anno post-trapianto, vengono eseguite 0-9 biopsie negli infanti e 0-16 biopsie negli adolescenti (23) Dopo il primo anno post-trapianto, la sorveglianza con EMB rimane frequente: la gran parte dei centri esegue almeno 4

biopsie di sorveglianza fra i 2 e 5 anni post-trapianto; successivamente, il 70% dei centri esegue almeno una biopsia annua (23). Per quanto riguarda le visite cliniche, l'aggiornamento del 2023 del ISHLT suggerisce di effettuarle ogni 7-10 giorni durante il primo mese post-trapianto, ogni 14 giorni nel secondo mese, mensilmente durante il primo anno e ogni 3-6 mesi negli anni a seguire(23). Il timing risulta più complesso da definire per quanto riguarda la sorveglianza invasiva del rigetto acuto. Si consideri che la gran parte delle EMB di sorveglianza vengono effettuate su pazienti asintomatici e in regime di immunosoppressione. Dati recenti dimostrano che le biopsie condotte in questo contesto risultano positive per rigetto cellulare moderato-severo in solo l'1-2% dei casi (42). Al contrario, quando viene effettuata una biopsia sulla base del sospetto clinico, dunque per segni/sintomi o disfunzione d'organo, la probabilità di intercettare un rigetto è del 18% (43). In aggiunta, recenti studi hanno dimostrato che non ci sono differenze statisticamente significative, in termini di sopravvivenza a lungo termine e sulla diagnosi precoce di rigetti moderati-severi, fra i centri che utilizzano protocolli di sorveglianza con EMB ad alta intensità e a bassa intensità nel primo anno post-trapianto (44-46). Ne deriva dunque una riduzione nel numero delle EMB di sorveglianza e una maggior enfasi sulle metodiche di monitoraggio non invasivo del rigetto. Nei pazienti pediatrici, inoltre, il rischio di complicanze della EMB è maggiore e la procedura richiede anestesia generale o sedazione profonda, aumentando dunque i rischi e i costi della procedura. Pertanto, alcuni centri non sottopongono i bambini sotto un dato peso e sotto una data età al monitoraggio di sorveglianza con EMB. Per i piccoli pazienti, dunque, in virtù di quanto appena descritto, sussiste un crescente sforzo per lo sviluppo di metodiche non invasive di controllo. Un ruolo sempre più importante è ricoperto dall'ecocardiografia, come verrà analizzato in seguito in maniera più dettagliata. Nei pazienti pediatrici, l'ecocardiografia, soprattutto con una valutazione dettagliata della funzione diastolica, sembra correlare con lo sviluppo di rigetto acuto significativo(23). Tuttavia, al momento, nessuna metodica non invasiva può sostituire il ruolo della biopsia endomiocardica.

1.2 Ecocardiografia

L'ecocardiografia transtoracica (TTE) rappresenta la metodica non invasiva principale per il follow-up dei pazienti cardiotrapiantati. Può essere eseguita al letto del paziente, con valutazioni seriate e senza alcun rischio annesso alla procedura. Per tali motivazioni, risulta la metodica più appropriata in età pediatrica ed è crescente l'interesse verso l'individuazione di parametri ecografici che possano fungere da predittori nella diagnosi di rigetto acuto e di CAV. La valutazione ecocardiografica dei pazienti cardiotrapiantati è essenzialmente analoga a quella della popolazione generale; tuttavia, è imprescindibile considerare la peculiare fisiologia del cuore trapiantato e come questa influenzi i tradizionali parametri ecocardiografici. In primo luogo, l'impulso elettrico nasce dall'atrio del donatore e, per almeno i primi 6-12 mesi dal trapianto, la frequenza cardiaca non è sotto il controllo del sistema nervoso autonomo del ricevente; per tale motivo, nei cuori trapiantati, l'output cardiaco dipende essenzialmente dal pre-carico e la frequenza media basale si attesta sui 90-110 bpm (47,48). In secondo luogo, a causa del mismatch fra le dimensioni del donatore e del ricevente, il cuore trapiantato è normalmente soggetto a maggiore mobilità. In più, il contributo atriale al riempimento ventricolare è ridotto a causa dell'alterata anatomia e funzione a seguito delle suture chirurgiche(47). Allo stesso modo, anche la valutazione della morfologia atriale può essere più o meno difficoltosa in dipendenza della tecnica chirurgica utilizzata. Attualmente l'anastomosi viene prevalentemente effettuata attraverso la tecnica bicavale e questo consente di preservare maggiormente la geometria atriale(49). Normalmente, i cuori trapiantati sono caratterizzati da una fisiologia restrittiva durante il primo anno post-trapianto; questo è dovuto, probabilmente, all'edema infiammatorio che fa seguito al danno da ri-perfusione, al tempo di ischemia del cuore trapiantato e a meccanismi immuni (50,51). La funzione diastolica tende poi a migliorare fino a progredire verso un pattern di riempimento non-restrittivo durante il primo anno. Reperti frequenti, soprattutto nell'immediato post-trapianto, sono l'insufficienza tricuspidaica, prevalentemente relazionata all'ipertensione polmonare del ricevente e alla tecnica chirurgica, e versamento pericardico, relazionata al mismatch donatore-ricevente o a meccanismi immuni(49). A fronte di queste peculiari caratteristiche, risulta difficile definire dei valori di riferimento ecocardiografici, in particolare per la popolazione

pediatrica. Motivo per cui è raccomandato considerare l'andamento di questi parametri nel tempo, a partire da una valutazione ecocardiografica basale completa effettuata almeno sei mesi dopo l'intervento chirurgico (48).

1.2.1 Ecocardiografia di base

1.2.1.1 Ventricolo sinistro

La valutazione ecocardiografica di base del ventricolo sinistro si avvale del calcolo degli spessori, della funzione sistolica e della funzione diastolica. Nel primo mese post-trapianto si verifica un inspessimento fisiologico della parete e della massa del ventricolo sinistro (LV) per la presenza di edema, che normalmente tende a normalizzarsi dopo tre mesi raggiungendo valori pari a circa 10 mm. A seguito di questo periodo, l'aumento degli spessori parietali può essere dovuto a molteplici cause come: persistente tachicardia dovuta a denervazione vagale, ipertensione sistemica secondaria a trattamento immunosoppressivo o ad episodi di rigetto (52). Il parametro basilare per la valutazione della funzione sistolica del ventricolo sinistro è la frazione d'eiezione (LVEF), definita come il rapporto fra il volume che viene espulso dal ventricolo durante la sistole e il volume presente nel ventricolo sinistro alla fine della diastole. Normalmente, LVEF va incontro a normalizzazione nell'immediato post-operatorio e un valore ridotto durante il primo anno post-trapianto è predittivo per lo sviluppo di AR o CAV (52). Tuttavia, questo indice presenta delle criticità legate alla scarsa riproducibilità delle immagini e all'insufficiente sensibilità nell'individuare disfunzione sistolica subclinica(53).

La funzione diastolica del ventricolo sinistro può essere valutata mediante ecocardiografia Doppler. La registrazione Doppler del flusso mitralico permette di valutare la velocità di picco protodiastolico, dunque il riempimento ventricolare rapido (E), la velocità di picco telediastolico, dunque il contributo della sistole atriale (A), il rapporto E/A e il tempo di decelerazione (DT). In un cuore che presenta un normale pattern di riempimento diastolico, l'onda E risulta essere maggiore dell'onda A. Per cui, il rapporto $E/A < 0,8$ indica una disfunzione diastolica, mentre una ratio $> 2,1$ indica un pattern restrittivo (54). Tuttavia, è necessario sottolineare alcune caratteristiche

peculiari del cuore trapiantato: la denervazione, dunque la conseguente tachicardia di base, conduce ad una valutazione difficoltosa della diastole in virtù della fusione fra l'onda E ed A (figura 6). In più, come già riportato, un pattern restrittivo è comune nel primo anno post-trapianto e la sistole atriale fornisce un contributo minoritario determinando una diminuzione della velocità dell'onda A, quindi un aumento del rapporto E/A.

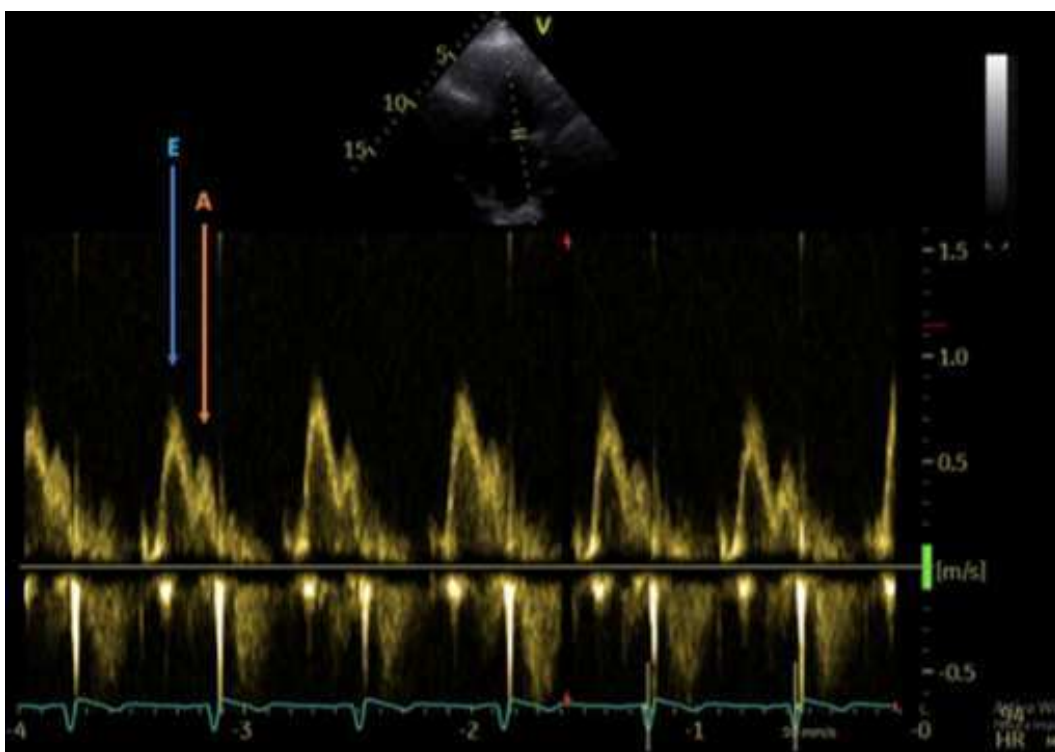


Figura 6: immagine Doppler mitralico che mostra la fusione fra l'onda E (freccia blu) e onda A (freccia arancione) a causa dell'elevata frequenza cardiaca (94 bpm)(79).

Un'ulteriore valutazione della funzionalità del ventricolo sinistro deriva dal *Tissue Doppler imaging* (TDI). Questa metodica permette di esaminare la componente longitudinale della contrazione del miocardio durante il ciclo cardiaco. Le limitazioni derivano essenzialmente dalla dipendenza dall'angolo di incidenza del fascio ultrasonoro e dalla necessità di un elevato frame rate per acquisire immagini di buona qualità(55). Il segnale TDI durante il ciclo cardiaco è costituito da tre picchi: uno sistolico positivo, s' , e due diastolici negativi, e' e a' , come mostrato in figura 7.

Dunque, la valutazione della velocità e' fornisce una misura del rilassamento del ventricolo sinistro durante l'inizio della diastole ed è indipendente dal precarico. Tale parametro può essere valutato sia a livello della porzione settale che laterale dell'anulus mitralico, in proiezione apicale quattro camere (4-CH) (55).

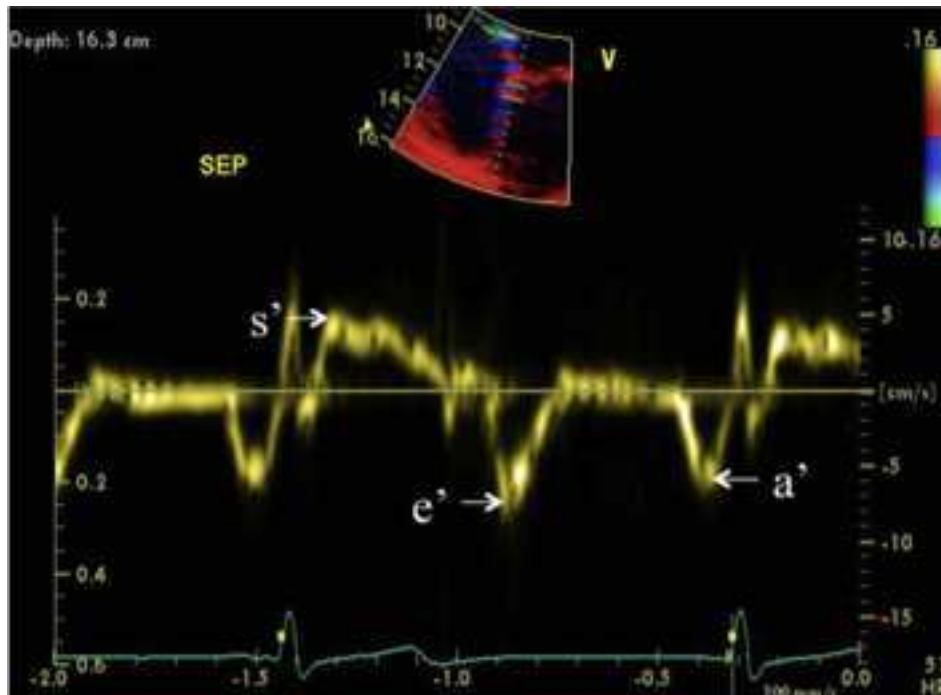


Figura 7: Tissue Doppler Imaging pulsato a livello della porzione settale dell'anulus mitralico, visione in 4 camere (55).

Nel cuore trapiantato, è necessario tener conto dell'esagerato movimento traslazionale nella valutazione della velocità miocardica. Inoltre, le velocità TDI sono diminuite a seguito del trapianto e aumentano gradualmente durante il primo anno, rimanendo comunque inferiori rispetto alla popolazione generale (48). Dai parametri precedentemente analizzati, è possibile ricavare anche il rapporto E/e' che correla con la pressione di riempimento telediastolico del LV e con la wedge pressure dei capillari polmonari (55).

1.2.1.2 Ventricolo destro

La valutazione ecocardiografica del ventricolo destro risulta maggiormente difficoltosa rispetto al ventricolo sinistro, data la posizione retrosternale.

Nell'immediato post-trapianto la dimensione del ventricolo destro risulta aumentata a causa del mismatch del post-carico, con relativa ipertensione polmonare del ricevente. La normalizzazione di tale valore è prevista nei mesi post-trapianto, in concomitanza alla riduzione delle resistenze polmonari (48). I parametri ecografici di base che permettono di esplorare la funzione sistolica del ventricolo destro sono: fractional area change (FAC), tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) e l'onda S'. La FAC rappresenta un indice complessivo della funzione sistolica del ventricolo destro ed è definito come la differenza fra le aree del RV in telediastole e telesistole (56). Nella popolazione adulta, i valori normali si attestano intorno al 40%. TAPSE è una misura dell'escursione sistolica dell'anello tricuspidalico lungo il piano longitudinale, tipicamente valutata attraverso la proiezione apicale quattro camere. Dunque, questo indice permette di stimare l'accorciamento longitudinale del ventricolo destro. I valori di riferimento nella popolazione adulta sana sono approssimativamente $24 \pm 3,5$ mm, mentre un valore inferiore a 17 mm è considerato anormale(57). Come per il ventricolo sinistro, anche il ventricolo destro può essere valutato attraverso TDI. In particolar modo, la velocità di picco sistolico S', valutata attraverso Doppler pulsato a livello del piano tricuspidalico o color doppler, fornisce informazioni sovrapponibili al TAPSE, ovvero sulla performance sistolica longitudinale del ventricolo destro. Negli individui adulti sani RV S' è pari a circa 14 ± 2 cm/s; valori inferiori a 11.5 cm/s sono indicativi di una disfunzione globale del RV (55).

1.2.1.3 Ruolo nella diagnosi di rigetto

Si considerino ora i parametri appena elencati e la possibile relazione con la diagnosi di rigetto. Sebbene gli spessori ventricolari abbiano una scarsa sensibilità e specificità nella diagnosi di ACR, è raccomandato il monitoraggio degli stessi durante il follow-up: un improvviso cambiamento deve far sospettare un rigetto acuto e indurre ulteriori valutazioni (48). Per quanto riguarda LVEF, una riduzione di questo valore nel periodo post-trapianto correla con la progressione di CAV, ma il ruolo predittivo nella diagnosi di rigetto è limitato in virtù della scarsa sensibilità; in più, l'alterazione di questo indice avviene solo tardivamente e non correla con la severità istopatologica

del rigetto (52). Nello sviluppo del rigetto acuto, la funzione diastolica sembrerebbe essere primariamente interessata rispetto alla funzione sistolica. Di fatto, durante gli episodi di rigetto, l'edema del miocardio, l'infiltrazione della matrice extracellulare, la fibrosi interstiziale e il rimodellamento della microvascolatura concorrono ad aumentare la rigidità del ventricolo (58). Il parametro maggiormente studiato in questo contesto è il rapporto E/A che, tuttavia, come già riportato, risulta essere difficilmente esplorabile in quanto risente dell'alta frequenza cardiaca di questi pazienti, del precarico e dell'alterata morfologia atriale (52). Similmente ai parametri di riempimento transmitralico del LV, molti studi si sono concentrati sulla validità delle velocità TDI nel predire AR. Nonostante ciò, i risultati ottenuti risultano essere discordanti. Dandel et al. (59) e Puleo et al. (60) hanno osservato una forte associazione fra la riduzione della velocità e' e lo sviluppo di episodi di ACR e CAV; al contrario, Stengel et al. (61) non hanno osservato alcuna associazione. In ogni caso, velocità TDI costanti nel tempo (dunque con un'oscillazione inferiore al 10% rispetto al baseline) e alti valori di velocità (come $e' = 16$ cm/s) sembrano avere una buona accuratezza per escludere, più che predire, AR con un valore predittivo negativo del 92% (48). Risulta tuttavia evidente la necessità di ulteriore ricerca per la validazione di tali parametri.

In conclusione, nessun parametro, singolarmente o in combinazione, si è rivelato predittore di rigetto. Come precedentemente sottolineato, è raccomandata una valutazione dell'andamento di questi parametri nel tempo nei pazienti cardiopiantati, con particolare riferimento alla diastole. Una disfunzione diastolica impatta significativamente sulla prognosi, a prescindere dalla causa scatenante. Si mostra in figura 7 un algoritmo proposto da Sciacaluga et al. (47) per la valutazione della funzione diastolica in pazienti cardiopiantati. I parametri considerati sono le velocità del inflow mitralico, le velocità TDI e il DT.

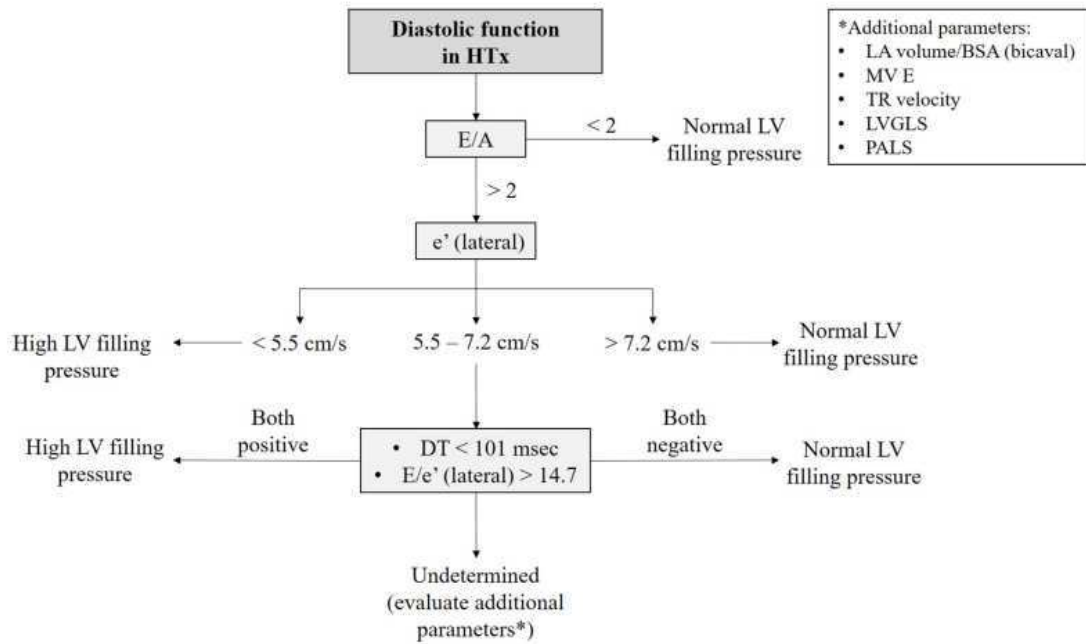


Figura 7: algoritmo della valutazione della funzione diastolica in pazienti trapiantati (47).

1.2.2 Ecocardiografia avanzata

1.2.2.1 Speckle tracking e strain

Date le limitazioni dell'ecocardiografia di base nella valutazione dell'attività ventricolare, sono state sviluppate nuove metodiche che permettono di caratterizzare la deformazione miocardica. In ambito ecografico, si definisce strain un accorciamento, ispessimento o allungamento localizzato del miocardio. Si utilizza un sistema di coordinate interno allineato con i tre assi cardiaci (longitudinale, circonferenziale e radiale) e si misura l'accorciamento e l'allungamento del miocardio nelle tre direzioni sopracitate durante il ciclo cardiaco, con l'inizio della sistole intesa come inizio del complesso QRS all'elettrocardiogramma. Se indichiamo con L_t la lunghezza di un segmento lungo una di queste direzioni ad un tempo t

del ciclo cardiaco e con L_0 la sua lunghezza iniziale, lo strain è definito come:

$$\epsilon_t = \frac{(L_t - L_0)}{L_0}$$

Uno strain di segno positivo significa allungamento o inspessimento, mentre uno strain di segno negativo indica accorciamento. Il valore ricavato è da intendersi come percentuale. Dallo strain deriva lo strain rate (SR), che rappresenta la velocità di deformazione del miocardio nel tempo ed è espresso in 1/s. Come mostrato in figura 8, è possibile dunque calcolare:

- Strain longitudinale: rappresenta il movimento della base verso l'apice; viene calcolato a partire dalle proiezioni apicali 4-camere, 3-camere e 2-camere;
- Strain radiale: rappresenta l'inspessimento e l'assottigliamento miocardico. Viene calcolato a partire dagli assi corti basali e apicali.
- Strain circonferenziale: è definito come la variazione del raggio in asse corto, perpendicolare agli assi radiale e longitudinale; si calcola anch'esso a partire dagli assi corti basali e apicali.

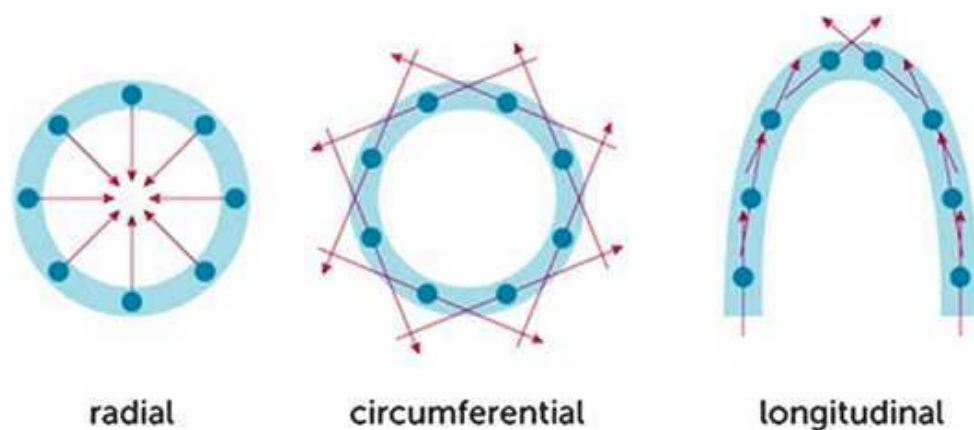


Figura 8: rappresentazione delle tre tipologie di strain (62).

La descrizione di questi tre tipi di deformazione permette una buona approssimazione del movimento cardiaco. Lo strain può essere acquisito usando il doppler tissutale (TDI) o attraverso l'ecocardiografia 2D speckle-tracking. La prima metodica, ormai superata, è una tecnica utilizzata per analizzare la funzione miocardica regionale. Questo metodo crea una mappa del ventricolo, dove la velocità del tessuto è rappresentata con l'uso di colori. Tuttavia, il limite di questa tecnica è che non consente di distinguere tra il movimento locale e quello traslazionale del cuore, particolarmente importante nei cuori trapiantati, e la dipendenza dall'angolo di incidenza del fascio ultrasonoro essendo basata sulla tecnica Doppler. La tecnologia più recente è, dunque, il 2D speckle-tracking (STE). Questa metodica si basa sul movimento degli speckle, che sono aree create dall'interazione tra le onde degli ultrasuoni e il tessuto miocardico. Questo permette di ottenere una valutazione oggettiva e quantitativa della funzione miocardica, sia a livello globale che regionale, sistolica e diastolica. Il software utilizzato dallo STE è poi in grado di identificare cluster di speckle, detti kernel, simili fra loro e di seguirli frame dopo frame durante il ciclo cardiaco, in modo da seguire nel tempo lo spostamento di una data regione miocardica(62). Questo funzionamento introduce l'importanza del frame rate, dunque dei fotogrammi acquisiti per secondo: il numero considerato adeguato è compreso tra i 60-110 fotogrammi per secondo (63). Ciò è fondamentale per combinare un'adeguata risoluzione temporale con un'accettabile risoluzione spaziale e per permettere un adeguato tracking frame-by-frame della regione di interesse. Lo studio procede in maniera semiautomatica: si traccia manualmente il profilo endocardico del segmento che si vuole considerare; il software tratterà poi automaticamente il profilo epicardico, definendo quindi una regione di interesse (ROI) che può essere eventualmente modificata dall'operatore, se necessario. Definita con precisione la ROI, il software la scompone automaticamente in sei segmenti. Viene poi fornita una curva di strain per ogni regione presa in esame, da cui si può ottenere lo strain globale risultante dalla media della deformazione delle sei regioni esaminate; viene altresì fornito il time to peak systolic strain. Quest'ultimo misura il tempo necessario, espresso in millisecondi, affinché una determinata regione del miocardio raggiunga il suo massimo livello di deformazione durante la fase sistolica del ciclo cardiaco. Questo valore è

utilizzato per valutare la sincronizzazione del movimento del cuore e può essere indicativo di disfunzioni regionali o asimmetrie nella contrazione cardiaca (64). Visivamente, se lo strain viene calcolato sulla base delle proiezioni apicali 4-CH, 3-CH e 2-CH del LV, viene restituita dal software un'immagine detta ad occhio di bue (bull's eye). Questa è costituita da 17 segmenti dove l'anello interno rappresentava l'apice del LV, gli anelli centrali i segmenti intermedi e l'anello esterno i segmenti basali. Inoltre, l'entità della deformazione miocardica è codificata in questa rappresentazione attraverso una scala cromatica rosso-rosa-blu (figura 9).

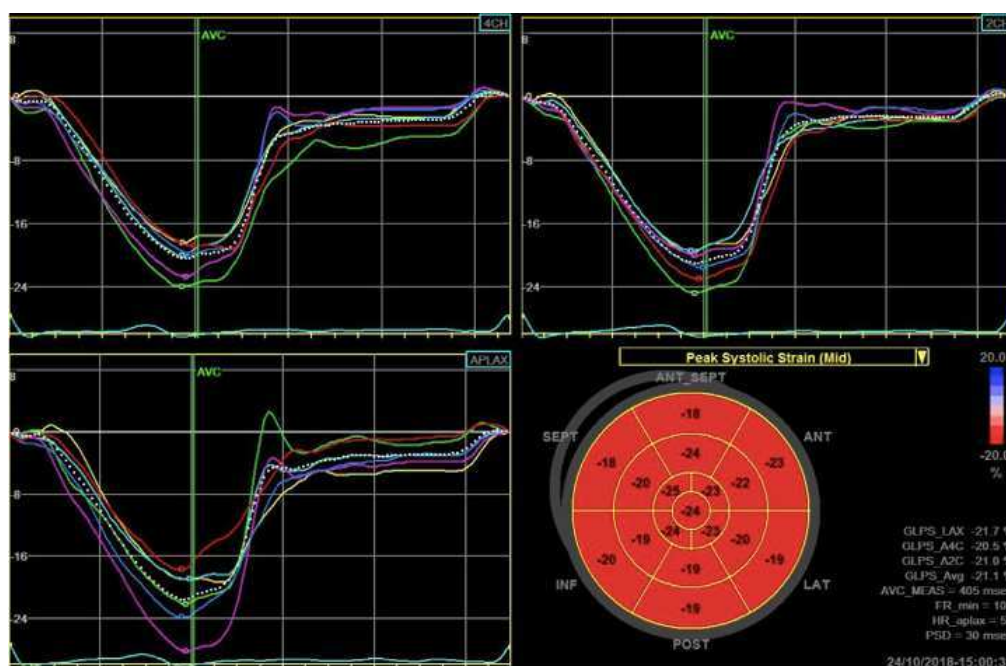


Figura 9: esempio di misura dello strain longitudinale globale e rappresentazione bull's eye (64).

I vantaggi dell'2D-STE sono sicuramente la facile riproducibilità delle immagini, l'indipendenza dall'angolo di incidenza del fascio ultrasonoro e dal movimento traslazionale del cuore, e l'elevata risoluzione spaziale. Le limitazioni derivano dalla necessità della registrazione elettrocardiografica per processare le immagini e dalla buona qualità delle stesse. Dopo aver introdotto i principi teorici alla base del 2D-STE, si passa alla caratterizzazione dei parametri di strain ventricolare.

Fra le tre componenti della deformazione miocardica, il global longitudinal strain (GLS) rappresenta quella più accurata, riproducibile e studiata. Ottenuto dal processamento delle proiezioni apicali 4-CH, 3-CH e 2-CH del LV, è un indice molto accurato della funzione globale dello stesso(64). I valori medi di riferimento di strain e strain rate longitudinale, circonferenziale e radiale del LV nella popolazione pediatrica sono stati individuati da una metanalisi condotta da Jashari et al. (65) (tabella III).

	LS (95 % CI)	LSRs (95 % CI)	CS (95 % CI)	CSRs (95 % CI)	RS (95 % CI)
Neonates	-21.0 (-17.3 to -24.7)	-2.1 (-1.5 to -2.6)	-19.7 (-18.1 to -21.3)		29.4 (24.9 to 33.9)
0-1 y	-19.3 (-17.3 to -21.2)		-20.1 (-17.1 to -23.1)		46.3 (35.0 to 57.5)
1-4 y	-21.7 (-19.7 to -23.8)		-19.8 (-16.2 to -23.3)	-1.73 (-1.62 to -1.83)	53.3 (50.0 to 56.7)
5-9 y	-22.7 (-21.5 to -23.9)	-1.6 (-1.5 to -1.8)	-22.9 (-22.5 to -23.4)	-1.66 (-1.55 to -1.77)	48.6 (39.4 to 57.8)
10-14 y	-20.0 (-19.2 to -20.9)	-1.2 (-1.0 to -1.4)	-21.3 (-19.6 to -23.1)	-1.51 (-1.39 to -1.62)	52.4 (47.4 to 57.3)
15-19 y	-19.8 (-18.5 to -21.0)	-1.2 (-1.0 to -1.4)	-19.9 (-16.8 to -23.0)	-1.06 (-0.97 to -1.14)	47.6 (37.0 to 58.1)
Overall	-20.6 (-20.1 to -21.2)	-1.4 (-1.3 to -1.5)	-22.5 (-22.0 to -22.9)	-1.42 (-1.37 to -1.47)	46.8 (44.6 to 48.9)

Tabella III: range di valori normali di strain e strain rate del ventricolo sinistro divisi per sottogruppi d'età nella popolazione pediatrica (65).

In linea generale, le raccomandazioni attuali non individuano un vero e proprio limite inferiore di normalità per il GLS, ma il valore che si attesta nella popolazione sana è di circa -20% (64).

La tecnica del 2D-STE applicata al ventricolo destro risulta essere limitata in virtù della posizione anatomica retrosternale e della complessa geometria della cavità. Pertanto, lo studio dello strain del ventricolo destro viene effettuato su un'unica proiezione apicale 4-CH. Questa consente di calcolare il global strain (GS), che analizza il contributo alla deformazione miocardica longitudinale della parete settale e della parete libera, e lo strain della parete libera (FWS), che analizza il contributo solamente di quest'ultima. Valori di GS meno negativi di -15,5% e di FWS meno negativi di -16,9% sono considerati anormali (66).

1.2.2.2 Myocardial work

Sebbene il GLS fornisca una migliore quantificazione della funzione del LV rispetto al LVEF, entrambe le misure sono dipendenti dal post-carico. Questo rappresenta una forte limitazione in quanto non permette di differenziare una

diminuzione del GLS per effettiva disfunzione della contrazione miocardica o per aumento del post-carico (67). Per tale motivo, nel 2018, è stata validata una nuova metodica, il myocardial work (MW), che integra i valori di pressione del LV e quelli dello strain longitudinale ecocardiografico; ciò permette dunque di valutare la performance ventricolare in maniera meno load-dependent rispetto al GLS e di quantificare il lavoro svolto dal miocardio durante il ciclo cardiaco (68).

Il primo step per valutare il myocardial work è l'acquisizione delle proiezioni apicali 4-CH, 3-CH, 2-CH; attraverso lo STE, vengono quindi stimati il GLS e il corrispettivo bull's eye del LV. Successivamente, è necessario definire il timing degli eventi valvolari mitro-aortici: a partire dalla proiezione apicale 3-CH, vengono visualizzate l'apertura e la chiusura della valvola mitrale e aortica. Il timing di questi eventi viene poi riportato, attraverso dei cursori, sulla corrispondente traccia elettrocardiografica. Infine, viene valutata la pressione brachiale del paziente e viene inserita nell'applicazione sia la componente sistolica che diastolica. Il picco di pressione sistolica del LV è considerato uguale al picco sistolico della pressione misurata in maniera non invasiva, in assenza di gradienti a livello del tratto di efflusso del ventricolo sinistro e a livello della valvola aortica (69). Negli step di acquisizione del myocardial work è necessario prestare attenzione a degli aspetti che possono modificarne la stima. In primo luogo, tutte le proiezioni apicali dovrebbero essere registrate con almeno 40-80 frame per secondi; in secondo luogo, è necessaria una chiara visualizzazione del bordo endocardico in modo da poter definire con accuratezza la ROI che deve racchiudere tutto il miocardio (69). Dopo aver definito tutti questi passaggi, il sistema restituisce automaticamente il bull's eye del myocardial work, come per il GLS. Al contempo, viene mostrato il grafico pressione-strain e vengono definite tutte le componenti del myocardial work (figura 10). Di fatto, il myocardial work è suddiviso in diverse componenti che permettono di analizzare nel dettaglio il lavoro svolto:

- **Global Work Index (GWI):** rappresenta il lavoro totale compiuto dal miocardio durante l'intero ciclo cardiaco. Si calcola integrando il prodotto della pressione arteriosa e lo strain miocardico globale.

- Global Constructive Work (GCW): indica il lavoro positivo svolto dal miocardio durante la contrazione e il rilasciamento attivo, quando le fibre si accorciano durante la sistole e si allungano durante la diastole, contribuendo quindi in maniera efficiente alla funzione di pompa.
- Global Wasted Work (GWW): si riferisce al lavoro inefficace compiuto dal miocardio, come l'allungamento delle fibre durante la sistole e l'accorciamento durante la diastole.
- Global Work Efficiency (GWE): esprime l'efficienza del lavoro cardiaco, calcolata come il rapporto tra il GCW e la somma del GCW e GWW. Un valore elevato indica un cuore che lavora in modo efficiente, mentre un valore ridotto suggerisce inefficienze.

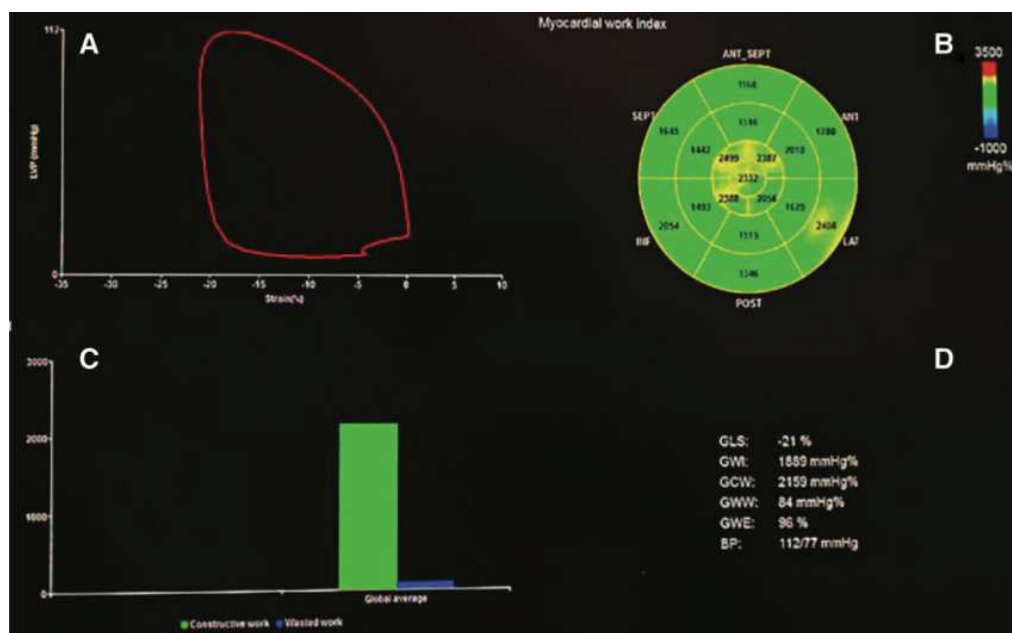


Figura 10: misura del myocardial work dal 2D-STE. A) curva pressione-strain; B) bull's eye del global work index; C) grafico a barre che rappresenta il rapporto fra il global constructive work (GCW) e global wasted work (GWW); D) risultati dell'analisi delle componenti del myocardial work.

I valori di riferimento del myocardial work nella popolazione pediatrica non sono ancora completamente stabiliti. Tuttavia, studi recenti hanno proposto dei range di riferimento basati su campioni di popolazione pediatrica sana.

Sabatino et al. (70), attraverso uno studio retrospettivo multicentrico, hanno valutato i valori di myocardial work in 150 bambini sani. I valori di riferimento medi ottenuti, divisi per sottogruppi d'età, sono mostrati in tabella IV. Tuttavia, gli studi concludono che l'età e il genere sembrano non essere significativamente associati agli indici di myocardial work (70–72).

GWI and GCW per age group	Total, mean \pm SD or median (IQR)	GWW and GWE Per age group	Total, median (IQR)
<i>GWI, mmHG%</i>		<i>GWW, mmHG%</i>	
<i>0-1 y</i>	1645 \pm 58	<i>0-1 y</i>	81 (61-81.5)
<i>1-5 y</i>	1834 \pm 284	<i>1-5 y</i>	80 (53-98)
<i>6-9 y</i>	1706 \pm 219	<i>6-9 y</i>	74 (51-92)
<i>10-13 y</i>	1864 \pm 189	<i>10-13 y</i>	61 (46-74)
<i>14-18 y</i>	1748 \pm 258	<i>14-18 y</i>	66 (48-86)
<i>GCW, mmHG%</i>		<i>GWE, %</i>	
<i>0-1 y</i>	2474 (2237-2523)	<i>0-1 y</i>	95 (95-96.5)
<i>1-5 y</i>	2312 (2161-2664)	<i>1-5 y</i>	96 (96-97)
<i>6-9 y</i>	2062 (1986-2328)	<i>6-9 y</i>	96 (95-97)
<i>10-13 y</i>	2229 (2044-2338)	<i>10-13 y</i>	97 (96-97)
<i>14-18 y</i>	2005 (1886-2177)	<i>14-18 y</i>	96 (95-97)

Tabella IV: normali valori di riferimento del myocardial work divisi per sottogruppi d'età (70).

Le limitazioni di questa metodica sono per lo più legate all'analisi del GLS. Immagini di scarsa qualità, basso frame rate, fibrillazione atriale e tachicardia possono dunque condurre ad una inaccuratezza nell'analisi del tracking, quindi del myocardial work (67).

1.2.2.3 Ruolo nella diagnosi di rigetto

Come precedentemente analizzato, nessun parametro ecocardiografico di base ha una sensibilità e specificità tale da poter sostituire la EMB nella sorveglianza e diagnosi di AR. Un interesse crescente riguarda ora l'ecocardiografia avanzata. Di fatto, la valutazione della deformazione

miocardica rappresenta uno strumento più accurato che permette di intercettare anomalie subcliniche della funzione cardiaca. Tuttavia, si consideri come i valori basali di strain della popolazione cardiotrapiantata, anche in assenza di rigetto, siano inferiori rispetto alla popolazione generale (73).

In questo contesto, le prime informazioni derivano dall'utilizzo del TDI nel calcolo dello strain. Dagli studi di Marciniak et al. (74) e Kato et al. (75) si evince che il calcolo dello strain e strain rate attraverso TDI è una buona tecnica per intercettare AR di grado uguale o superiore a 1B. Tuttavia, la necessità di analizzare manualmente le immagini, la dipendenza dall'angolo d'incidenza ultrasonoro e la presenza di movimento paradossale della parete settale dopo chirurgia cardiaca, hanno determinato l'abbandono di tale tecnica. Per tale motivo, l'interesse è crescente verso l'utilizzo del 2D-STE. La letteratura è ricca di studi che analizzano la relazione che intercorre fra questa metodica e la diagnosi di AR. Elkaryoni et al (76) hanno condotto una recente metanalisi analizzando i dati provenienti da dieci differenti studi monocentrici che valutavano le variazioni nel GLS, in rapporto alla EMB, nel ACR. Sono stati pertanto analizzati 511 pazienti con un totale di 1267 biopsie, divisi in due gruppi in base all'esito della stessa. Si è evidenziato che la variazione del GLS fra il gruppo ACR positivo e ACR negativo è statisticamente significativa ($p < 0,001$), per cui sembrerebbe un parametro utile nell'intercettare ACR nei pazienti cardiotrapiantati. Una seconda metanalisi è stata condotta da Zhu et al. (77); in questo caso, sono stati inclusi sette studi monocentrici che analizzavano il ruolo del GLS, CS, RS e RV-FWS nella diagnosi di AR. Complessivamente, sono stati analizzate 1173 EMB ed ecocardiografie e i pazienti sono stati suddivisi in AR negativi (grado 0 o 1R alla EMB) e AR positivi (grado $\geq 2R$). Anche in questo caso, è stata osservata una differenza statisticamente significativa nella variazione del GLS fra i due gruppi ($p < 0,001$), con i pazienti con AR che presentano valori significativamente inferiori. Lo stesso risultato è stato osservato anche nel caso dello strain circonferenziale del ventricolo sinistro ($p < 0,0019$). Al contrario, lo strain radiale del ventricolo sinistro sembrerebbe non differire in maniera statisticamente significativa fra i due gruppi ($p = 0,1870$). Per quanto riguarda

lo strain della parete libera del ventricolo destro, anche in questo caso, i pazienti cardiotrapiantati ACR positivi presentano dei valori significativamente inferiori rispetto al gruppo ACR negativo ($p < 0,0001$). Nonostante le metanalisi sembrerebbero dimostrare una diminuzione dei valori di strain nei pazienti cardiotrapiantati in concomitanza agli eventi di rigetto, non tutti gli studi arrivano alla medesima conclusione: Da Costa et al. (78), analizzando i dati di 105 ecocardiografie post-EMB in 53 pazienti, hanno valutato l'associazione fra i parametri di strain ventricolare e AR di tipo cellulare, umorale o misto. In questo caso, non è stata evidenziata alcuna correlazione statisticamente significativa.

Le due metanalisi hanno anche permesso di evidenziare come i cut-off dei parametri di strain ventricolare siano molto eterogenei e che tutti gli studi finora condotti in questo ambito siano di tipo osservazionale; pertanto, i risultati eterogenei possono essere stati influenzati da differenze nel disegno dello studio, dalla mancanza di corrispondenza dei diversi software STE e da errori di campionamento nell'EMB (79). Dunque, fino a questo momento, nessun parametro ecocardiografico può essere utilizzato singolarmente nel predire AR. Nonostante ciò, nel momento in cui l'andamento dei parametri di strain rimane stabile nel tempo, la probabilità di rigetto è molto bassa; al contrario, la modifica concomitante di più predittori aumenta la probabilità di rigetto(79).

Attualmente, l'indice più sensibile nella valutazione della performance segmentale e globale del LV è il myocardial work (69). Tuttavia, essendo una metodica molto recente, sono ancora limitati gli studi che analizzano la relazione che intercorre fra MW e AR. Lo studio condotto da Otto et al. (80) ha valutato l'associazione fra il myocardial work e ACR durante il primo anno post-trapianto. Sono stati presi in considerazione 67 pazienti nel primo anno post-trapianto, di cui 31 con ACR e 36 senza. L'analisi del MW ha evidenziato un aumento del global work efficiency (GWE) nei pazienti ACR positivi ($p = 0,03$). Questo risultato, apparentemente controverso, è stato interpretato dagli autori come una possibile conseguenza dell'attivazione neuroormonale, dunque dall'aumento del post carico, che si verifica in questi pazienti: per mantenere una normale frazione di eiezione, l'efficienza contrattile deve essere compensata portando ad un aumento di GWE.

Tuttavia, per comprendere il ruolo del MW nel predire AR sono necessari ulteriori studi.

1.2.3 Ruolo nella diagnosi di CAV

Analogamente a quanto appena descritto, è crescente l'interesse per le metodiche non invasive anche nella diagnosi precoce di CAV. L'assessment ecocardiografico di base ha un'accuratezza diagnostica molto limitata nella diagnosi di CAV. Di fatto, LVEF è frequentemente nel range normale anche nelle forme avanzate (79). Anche in questo caso, per i medesimi meccanismi illustrati nel contesto di AR, l'impairment interessa dapprima la funzione diastolica. Un pattern restrittivo, definito dal $E/A > 2$, $IVRT < 60$ msec e $DT < 105$ msec, è generalmente presente in pazienti con CAV severa (79). Per tale motivo, un peggioramento nella funzione diastolica durante il follow-up di questi pazienti, sebbene non specifico per CAV, deve condurre ad ulteriore valutazione.

Il ruolo del 2D-STE in questo contesto risulta essere meno esplorato rispetto alla diagnosi precoce di rigetto. Sciaccalunga et al. (81) hanno esaminato una popolazione di 33 pazienti cardiotrapiantati, sottoposti ad ecocardiografia transtoracica e coronarografia allo stesso momento. Questi sono stati quindi divisi in due gruppi a seconda dell'esito dell'angiografia. Dall'analisi dei risultati è emerso che i pazienti CAV positivi hanno dei valori di GLS significativamente inferiori rispetto al gruppo CAV negativo ($p=0,0004$). Inoltre, valutando lo strain per strati, è emerso che l'endocardio è maggiormente suscettibile al danno ipossico-ischemico e che dunque la diminuzione del GLS genera un gradiente dall'endocardio all'epicardio. Clemmensen et al (82), a seguito dell'analisi di 178 pazienti, hanno concluso che i pazienti cardiotrapiantati con CAV non solo presentano dei valori di GLS significativamente inferiori rispetto al gruppo controllo, ma che la diminuzione di questo indice correla anche con la severità di CAV.

A questi studi, si sono recentemente aggiunte valutazioni che investigano il ruolo predittivo del myocardial work nell'intercettare precocemente CAV. Pradhan et al. (83) hanno analizzato i valori di MW di una popolazione di 24 bambini, divisi in due gruppi in base alla presenza di CAV, in rapporto ai valori di MW della popolazione pediatrica sana. In primo luogo, è stato evidenziato che i pazienti cardiotrapiantati presentano una riduzione dei valori di GWI e GWE rispetto alla popolazione

pediatrica sana ($p < 0,01$). In secondo luogo, GWE risulta significativamente inferiore nei piccoli pazienti cardiopiantati con CAV rispetto ai piccoli pazienti cardiopiantati in assenza di CAV ($p < 0,01$).

Un ulteriore studio è stato condotto molto recentemente da Cacioli et al. (84). Gli autori hanno analizzato i parametri di MW in 93 pazienti, stratificati attraverso la presenza o assenza di CAV valutata alla coronarografia. Dall'analisi dei dati, è emerso che l'unico indice di MW ridotto significativamente nella popolazione CAV positiva è GWE ($p < 0,001$). Di fatto, l'alterazione della perfusione miocardica può giustificare l'impairment del GWE e questo può essere un utile strumento nell'identificazione della CAV subclinica, permettendo di distinguere i pazienti CAV 0 dai pazienti CAV 1.

In conclusione, sebbene al momento nessuna metodica non invasiva possa sostituire il ruolo della coronarografia, i risultati presenti in letteratura sono promettenti, soprattutto per quanto riguarda l'ecocardiografia avanzata. In ogni caso, ulteriori studi sono necessari.

2. SCOPI DELLO STUDIO

Gli scopi dello studio sono stati:

- Valutare le caratteristiche demografiche e cliniche dei piccoli pazienti sottoposti a trapianto cardiaco e afferenti alla Cardiologia Pediatrica dell'Azienda Ospedaliera di Padova da gennaio 2008 a luglio 2024.
- Confrontare i parametri di ecocardiografia avanzata fra la nostra popolazione pediatrica cardiotrapiantata e la popolazione pediatrica sana. In assenza di una coorte di controllo nel nostro studio, i parametri di confronto, quando presenti, provengono dalla letteratura.
- Individuare marker non invasivi utili nel follow-up dei pazienti cardiotrapiantati. In particolar modo, il nostro studio mira a definire parametri ecocardiografici, di base o avanzati, che siano predittivi di rigetto o di outcomes in senso globale.

Nonostante il gold standard diagnostico di rigetto acuto e CAV sia rappresentato dall'esecuzione di esami invasivi, quali biopsia endomiocardica e coronarografia, è evidente la necessità di individuare parametri non invasivi predittivi. Di fatto, questi pazienti vengono sottoposti al follow-up a vita. Pertanto, l'individuazione di tali marker non invasivi permetterebbe di dilazionare le tempistiche degli esami invasivi e di personalizzare il follow-up.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Popolazione in esame

I pazienti oggetto dello studio sono stati selezionati analizzando l'attività trapiantologica cardiaca pediatrica dell'Azienda ospedaliera di Padova, da gennaio 2008 a luglio 2024. Tra i pazienti cardiotrapiantati in questo lasso di tempo, sono stati selezionati quelli attivamente seguiti dal nostro servizio, per un totale di 25 pazienti. Sono stati esclusi i pazienti deceduti e i pazienti passati all'ambulatorio dell'adulto.

3.2 Disegno dello studio

Lo studio è di tipo osservazionale retrospettivo. Una prima parte è incentrata sul follow-up longitudinale dei nostri pazienti, valutando gli esami ecocardiografici eseguiti ad 1-3-6-12 mesi post-trapianto; in seguito al primo anno post-trapianto, sono stati considerati gli esami ecocardiografici eseguiti ogni 6 mesi, fino a luglio 2024.

La seconda parte dello studio è incentrata sulla relazione fra EMB ed ecocardiografia. In primo luogo, abbiamo considerato un'ecocardiografia eseguita in corrispondenza della biopsia. La scelta della biopsia di riferimento è stata guidata dall'esito delle biopsie dei pazienti durante il follow-up: per i pazienti che non hanno mai avuto un episodio di rigetto, è stata scelta come riferimento l'ultima biopsia negativa eseguita; per i pazienti che hanno avuto un episodio di rigetto, è stata scelta come riferimento la biopsia eseguita al momento della diagnosi dell'episodio; per i pazienti che hanno avuto più di un episodio di rigetto, è stata scelta come riferimento la biopsia eseguita in concomitanza della diagnosi dell'episodio più severo. In secondo luogo, per tutti i pazienti, abbiamo considerato un'ecocardiografia eseguita un mese prima e un mese dopo la biopsia di riferimento. Inoltre, per i pazienti che hanno presentato almeno un episodio di rigetto, abbiamo considerato anche un'ecocardiografia eseguita in concomitanza di una biopsia negativa nel corso del follow-up.

Per ogni paziente sono stati considerati dati anamnestici e clinici, quali: sesso, età attuale, età quando sottoposti a trapianto, durata del follow-up, indicazione al trapianto, necessità di bridge con assistenza meccanica al circolo (ECMO, VAD), numero e grado degli episodi di rigetto, trattamento in acuto durante gli episodi, CAV,

neoplasie, complicanze ematologiche, ritrapianti di cuore, trapianti di altri organi, ricoveri e mortalità durante il periodo dello studio. Gli outcomes considerati nel nostro studio sono stati: aritmie, ricoveri per motivi cardiologici, rigetti clinicamente significativi, CAV, mortalità durante il periodo dello studio e ritrapianti di cuore. Ai fini dell'analisi statistica, sono stati considerati gli outcomes compositi come associazione degli eventi sopracitati.

3.3 Ecocardiografia di base

Tutti i pazienti hanno eseguito una valutazione ecocardiografica standard utilizzando un ecografo Vivid E95 (GE Vingmed Ultrasound AS, Horten, Norvegia), dotato di una sonda 4VC e di una sonda 6VC, e un ecografo Philips Epiq, dotato di sonde S8-3 e X5-1. Gli ecocardiogrammi sono stati eseguiti dai medici dell'equipe della cardiologia pediatrica. Le immagini sono state poi analizzate offline tramite il software EchoPAC versione 204 da un singolo lettore esperto (IC), cieco rispetto allo stato clinico e ai dati di laboratorio. In conformità con le ultime raccomandazioni, sono stati misurati i parametri convenzionali della funzione sistolica e diastolica: frazione di eiezione del ventricolo sinistro, flusso d'ingresso della valvola atrioventricolare e velocità anulari. La frazione di eiezione è stata valutata tramite il metodo biplano di Simpson. Le velocità di flusso mitralico sono state misurate posizionando il cursore del Doppler a onda pulsata sulle punte dei lembi mitralici in una proiezione apicale 4 camere; di conseguenza, sono stati identificati i picchi E e A. L'analisi TDI delle velocità diastoliche è stata eseguita dalla stessa proiezione, posizionando il Doppler a onda pulsata sul lato mediale e laterale dell'anello mitralico per definire rispettivamente le velocità settale e laterale E'.

3.4 Ecocardiografia avanzata

Per quanto riguarda l'ecocardiografia avanzata, sono stati calcolati lo strain longitudinale del ventricolo sinistro e quello globale e della parete libera del ventricolo destro, determinati tramite lo speckle tracking. Per garantire un tracking ottimale, le immagini sono state acquisite con un frame rate compreso tra 50 e 80 fotogrammi al secondo, con ritmo sinusale e variabilità della frequenza cardiaca $\leq 10\%$. Le immagini provenienti dagli ecografi Philips e GE sono poi state processate

con EchoPAC. Secondo il documento di consenso dell'EACVI, lo strain longitudinale del ventricolo sinistro (GLS) è stato calcolato dalle tre proiezioni apicali (apicale 4 camere, apicale 3 camere ed apicale 2 camere). Lo strain globale e della parete libera del ventricolo destro sono stati calcolati dalla proiezione apicale 4 camere. Una volta raccolte le immagini, è stato tracciato il bordo endocardico. Il tracciamento automatizzato fornito dal software è stato ispezionato prima di procedere con i risultati: il tracciamento è stato considerato valido quando seguiva il bordo endocardico durante tutto il ciclo cardiaco.

Quando è stato possibile, una volta ottenute le curve dell'analisi dello strain dalle 3 proiezioni apicali, è stata utilizzata una funzione dedicata del software GE per stimare il Myocardial Work (MW). I valori di pressione arteriosa sistolica e diastolica, ottenuti non invasivamente utilizzando uno sfigmomanometro digitale con cuffia brachiale, sono stati inseriti nel software. Il momento di apertura e chiusura delle valvole aortica e mitrale è stato identificato dall'operatore sulla base della registrazione della proiezione apicale 3 camere, come richiesto per la sincronizzazione dei dati di strain e pressione. Di conseguenza, è stato calcolato il Global myocardial Work Index (GWI) insieme alle componenti del lavoro miocardico che ne derivano:

- Global myocardial Constructive Work (GCW): lavoro svolto da un segmento durante l'accorciamento in sistole più il lavoro negativo durante l'allungamento nella fase di rilassamento isovolumetrico (IVR);
- Global myocardial Wasted Work (GWW): lavoro negativo svolto da un segmento durante l'allungamento in sistole più il lavoro svolto durante l'accorciamento nella fase di rilassamento isovolumetrico;
- Global myocardial Work Efficiency (GWE): GCW diviso per la somma del GCW e del GWW (0–100%).

3.5 Analisi statistica

Le variabili continue, i dati clinici ed ecocardiografici sono presentati come media \pm deviazione standard, se normalmente distribuiti, o come mediana e intervallo interquartile, se non normalmente distribuiti. La distribuzione della normalità è stata testata utilizzando il test di Shapiro-Wilk. Le variabili qualitative binomiali e ordinali sono presentate come frequenze e percentuali. La correlazione tra variabili continue è

stata testata utilizzando la correlazione di Pearson o il test di Spearman. Il confronto tra due gruppi è stato valutato utilizzando il test t di Student o il test di Mann-Whitney. Il confronto tra più gruppi è stato valutato mediante ANOVA univariata o il test di Kruskal-Wallis. Un valore di p di 0,05 è stato considerato statisticamente significativo per tutti i test. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite con il software SPSS versione 25.0 (IBM, Armonk, New York).

4. RISULTATI

4.1 Caratteristiche della popolazione generale

Dei 25 pazienti sottoposti a trapianto cardiaco nel nostro centro da gennaio 2008 a luglio 2024, 7 sono di sesso femminile (28%) e 18 di sesso maschile (72%) (Figura 11).

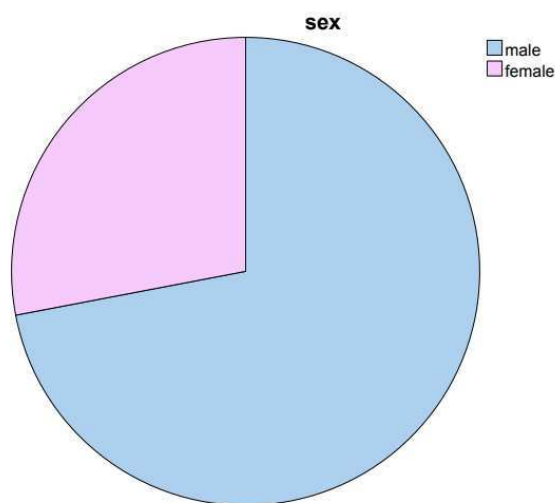


Figura 11: distribuzione per sesso dei pazienti arruolati nello studio.

Dividendo i nostri pazienti in fasce d'età rispetto al momento in cui sono stati sottoposti a trapianto cardiaco, si evince che 1 solo paziente è stato trapiantato a meno di un anno di vita (4%), 7 pazienti sono stati trapiantati nella fascia d'età di 1-5 anni (28%), 2 pazienti nella fascia d'età 6-10 anni (8%) e 15 pazienti nella fascia d'età 11-17 anni (60%). L'età mediana al momento del trapianto è di 11 anni (Figura 12). Il tempo mediano del follow-up dei pazienti arruolati nel nostro studio è di 2,46 anni.

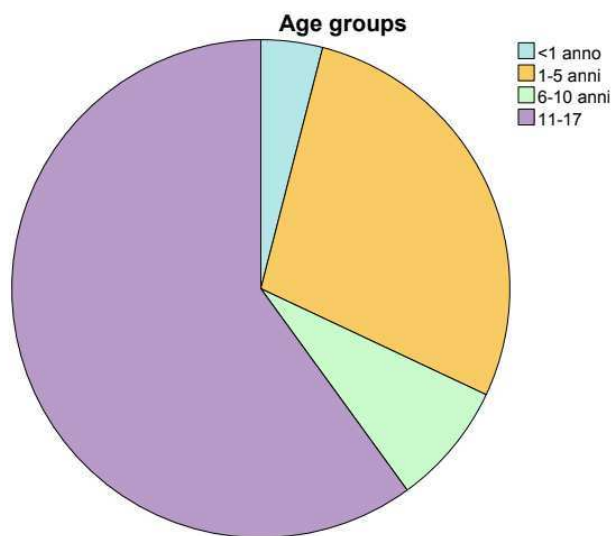


Figura 12: distribuzione per fasce d'età dei pazienti arruolati in concomitanza con il trapianto cardiaco.

Considerando le indicazioni all'intervento chirurgico presentate dai nostri pazienti al momento del trapianto, si evince che 13 pazienti presentavano una cardiomiopatia dilatativa (52%), 4 pazienti una cardiomiopatia ipertrofica (16%), 4 pazienti una cardiopatia congenita (16%) ed infine 4 pazienti una cardiopatia di altra eziologia (16%). (Figura 13).

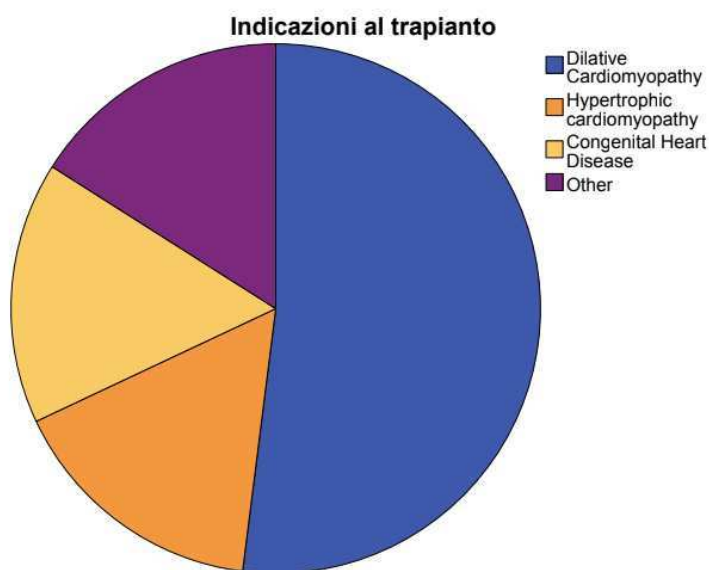


Figura 13: diagnosi al momento del trapianto cardiaco.

Incrociando i dati dell'indicazione al trapianto e il numero dei pazienti sottoposti a trapianto cardiaco divisi per fasce d'età si ottiene quanto mostrato in figura 14.

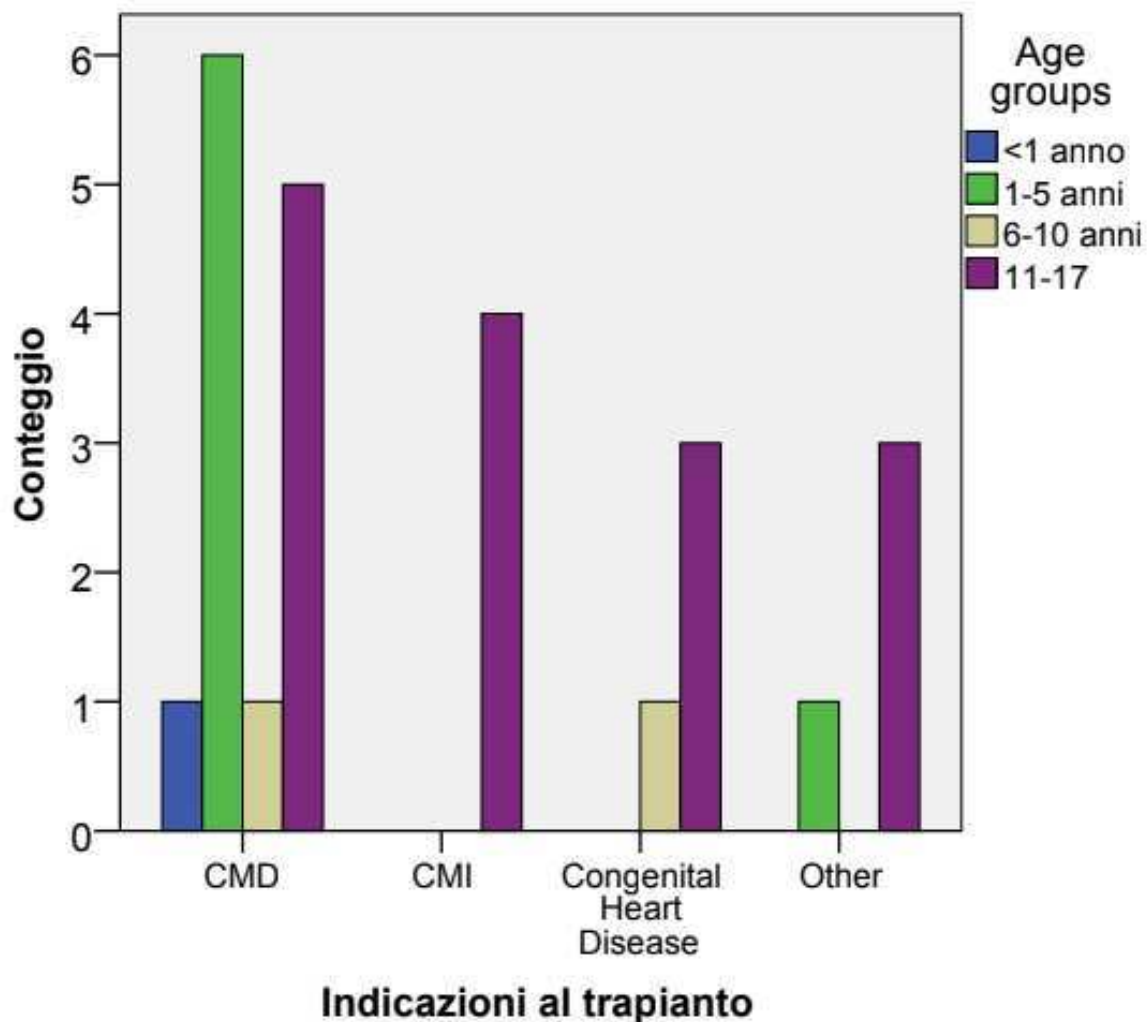


Figura 14: distribuzione per fasce d'età ed indicazioni al trapianto.

Per quanto riguarda l'utilizzo di assistenza meccanica al circolo come bridge al trapianto cardiaco, complessivamente, 14 pazienti ne hanno beneficiato (56%). Di questi, 6 pazienti hanno necessitato di ECMO (24%), seguito poi dall'impianto di VAD, e 8 pazienti esclusivamente di VAD (56% in totale). (Figura 15).

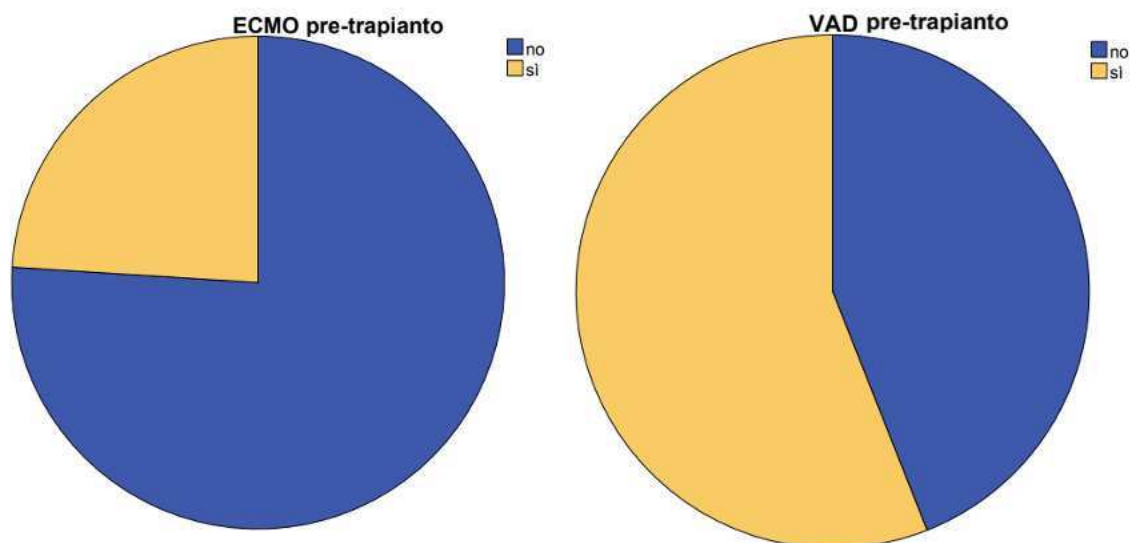


Figura 15: distribuzione dei pazienti che hanno necessitato di un dispositivo di assistenza meccanica al circolo.

4.2 Outcomes

Nella nostra popolazione di riferimento, nessun paziente ha una diagnosi di CAV. Allo stesso modo, nessun paziente è andato incontro a morte durante il periodo di osservazione, a ritrapianto di cuore o di altri organi. Solo 1 paziente ha presentato aritmie (4%); nello specifico, ha presentato episodi di TPSV nell'immediato post-operatorio. Solo 2 pazienti (8%) hanno sviluppato neoplasie di tipo ematologiche ovvero LMC e linfoma a cellule B maturo ad alto grado EBV+; 6 sono stati ricoverati per motivi cardiologici (24%) e altri 6 pazienti (24%) sono stati ricoverati per motivi non cardiologici, prevalentemente per IRA verosimilmente secondaria al trattamento immunosoppressivo. Per quanto riguarda il rigetto cardiaco, è sicuramente l'evento avverso maggiormente rappresentato nella nostra popolazione: 13 pazienti hanno avuto almeno un episodio di rigetto (52%), 8 pazienti non hanno mai presentato rigetto (32%) e infine 4 pazienti non hanno mai eseguito una biopsia (16%) (Figura 16).

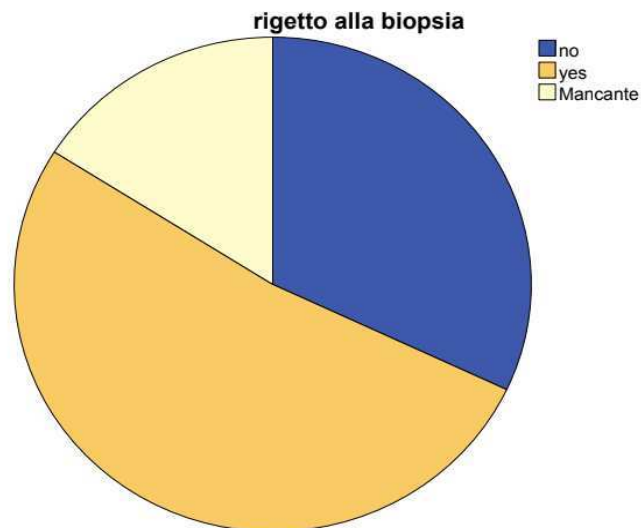


Figura 16: distribuzione del rigetto nella popolazione di riferimento.

Come precedentemente spiegato, per i pazienti che hanno presentato più di un episodio di rigetto è stata considerata come riferimento la biopsia eseguita al momento della diagnosi dell'episodio più grave. Pertanto, valutando il grado di rigetto alla biopsia di riferimento, si evince che 1 solo paziente è andato incontro ad un episodio di rigetto di tipo umorale 3B (4%) e 12 pazienti hanno presentato episodi di rigetto cellulare di vario grado (48%). In particolare, 4 pazienti hanno presentato un episodio di rigetto 1A (16%), 3 pazienti un episodio di rigetto 2 (12%) e 5 pazienti un episodio di rigetto 3A (20%). (Figura17).

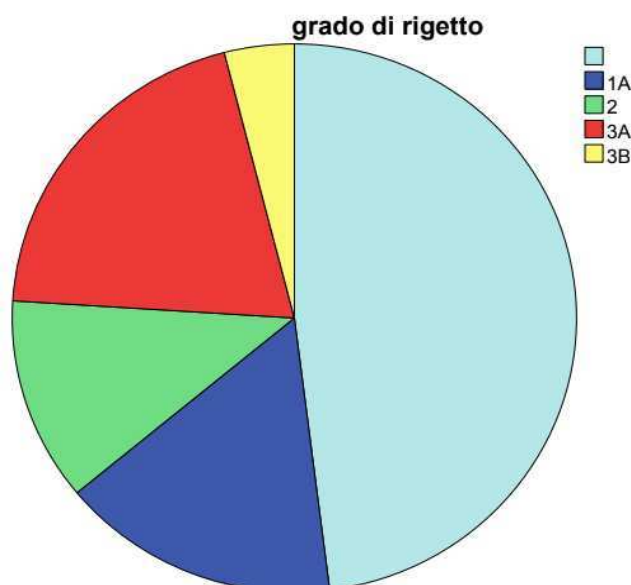


Figura 17: distribuzione del grado di rigetto presentato alla biopsia.

4.2.1 Correlazione età – rigetto

Abbiamo valutato se nella nostra popolazione ci fosse una fascia d'età in cui i pazienti vengono sottoposti a trapianto particolarmente suscettibile allo sviluppo di rigetto. Ne è derivato che il chi quadro per associazioni tra tempistica del rigetto e gruppi di età è significativo: gli adolescenti (fascia d'età 11-17) tendono ad avere più rigetto nel primo anno post trapianto sia dei piccoli che degli adulti con $p = 0,026$ (tabella V).

		Age groups				Totale
		<1 anno	1-5 anni	6-10 anni	11-17	
tempistica rigetto	rigetto nel primo anno post-trapianto	0	0	2	10	12
	rigetto dopo il primo anno	0	2	0	0	2
	nessun episodio di rigetto	1	5	0	5	11
Totale		1	7	2	15	25

Tabella V: tavola di contingenza tempistica rigetto e fasce d'età. Si noti è significativo il numero dei pazienti trapiantati nella fascia d'età 11-17 che va incontro a rigetto nel primo anno post-trapianto.

4.3 Valori medi alla biopsia e post-biopsia

Si riportano in tabella VI i valori ecocardiografici normalmente distribuiti presentati dai pazienti in concomitanza della biopsia di riferimento. In tabella VII si riportano i valori ecocardiografici non normalmente distribuiti presentati anch'essi in concomitanza della biopsia di riferimento. In tabella VIII e IX si riportano, rispettivamente, i valori ecocardiografici normalmente distribuiti e non normalmente distribuiti presentati dai pazienti ad un mese dalla biopsia di riferimento.

	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo
PSD (ms)	61,4	37,3	15,1	143,8
IVSd (mm)	8,1	1,9	5,0	12,0
E/A	2,00	,52	1,23	3,13
deceleration time (ms)	135	51	42	207
E/E' avg	7,40	2,30	4,50	12,00
E' avg (cm/s)	12,23	3,51	7,00	18,50
global work index (mmHg%)	1108	429	109	1533
global constructive work (mmHg%)	1554	527	411	2232
global wasted work (mmHg%)	91	64	24	222
TAPSE (mm)	14,4	5,3	4,3	23,0
S' wave RV (cm/s)	9,11	2,45	5,00	12,90
FAC (%)	41	9	26	55
RV GS (%)	-13,4	8,9	-19,7	15,5
RV FWS (%)	-17,5	5,6	-25,5	-7,4

Tabella VI: parametri eco normalmente distribuiti alla biopsia di riferimento.

	Mediana	Minimo	Massimo	Percentile 25	Percentile 75
GLS bio (%)	-16,5	-19,4	-3,0	-18,3	-15,2
LVPWd bio (mm)	8,0	5,0	10,5	6,0	10,0
EF bio (%)	65,0	29,0	82,0	61,5	70,0
GWE bio (%)	94	64	98	93	97

Tabella VII: parametri eco non normalmente distribuiti alla biopsia di riferimento.

	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo
PSD post (ms)	59,5	31,3	27,1	124,7
IVSd post (mm)	8,0	1,7	6,0	10,5
LVPWd post (cm)	8,1	1,7	6,0	12,0
E/A post	1,83	,66	,92	3,30
deceleration time post (ms)	141	60	63	286
E/E' avg post	7,72	3,46	3,55	16,00
E' avg post (cm/s)	12,29	3,28	7,00	19,00
global work index post (mmHg%)	1434	254	1091	1800
global constructive work post (mmHg%)	1924	261	1623	2181
global wasted work post (mmHg%)	93	58	33	186
global work efficiency post (%)	95	3	91	98
TAPSE post (mm)	12,4	3,5	5,0	18,0
S' wave RV post (cm/s)	8,89	2,83	5,00	16,00
FAC post (%)	44	10	20	58
RV GS post (%)	-16,9	5,2	-29,3	-6,7
RV FWS post (%)	-19,4	6,8	-35,0	-7,0

Tabella VIII: parametri eco normalmente distribuiti ad un mese dalla biopsia di riferimento.

	Mediana	Minimo	Massimo	Percentile 25	Percentile 75
GLS post (%)	-16,3	-21,8	-7,9	-17,7	-15,4
EF post (%)	64,0	45,0	77,0	61,0	70,0

Tabella IX: parametri eco non normalmente distribuiti ad un mese dalla biopsia di riferimento.

4.4 Ecocardiografia e rigetto

4.4.1 Confronto ecocardiografia e gruppi rigetto sì-no

In primo luogo, abbiamo confrontato i parametri ecocardiografici, di base e avanzati, fra la popolazione che ha presentato almeno un episodio di rigetto e la popolazione che non ha mai presentato un episodio di rigetto. Abbiamo dunque analizzato i parametri dell'ecocardiografia eseguita al momento della biopsia positiva o negativa di riferimento, rispettivamente per i due gruppi di pazienti.

Dall'analisi del confronto, è emerso che l'unico parametro la cui variazione è statisticamente significativa fra i due gruppi è il PSD (Peak Strain Dispersion) con una $p=0,036$. Questo rappresenta un tempo in millisecondi, indice di eventuali dissincronie nella contrazione dei segmenti miocardici. Nello specifico, il gruppo presentante rigetto mostra dei valori di PSD più alti rispetto al gruppo che non presenta rigetto (figura 18). Il confronto fra i due gruppi è stato effettuato con il test t di Student per campioni indipendenti.

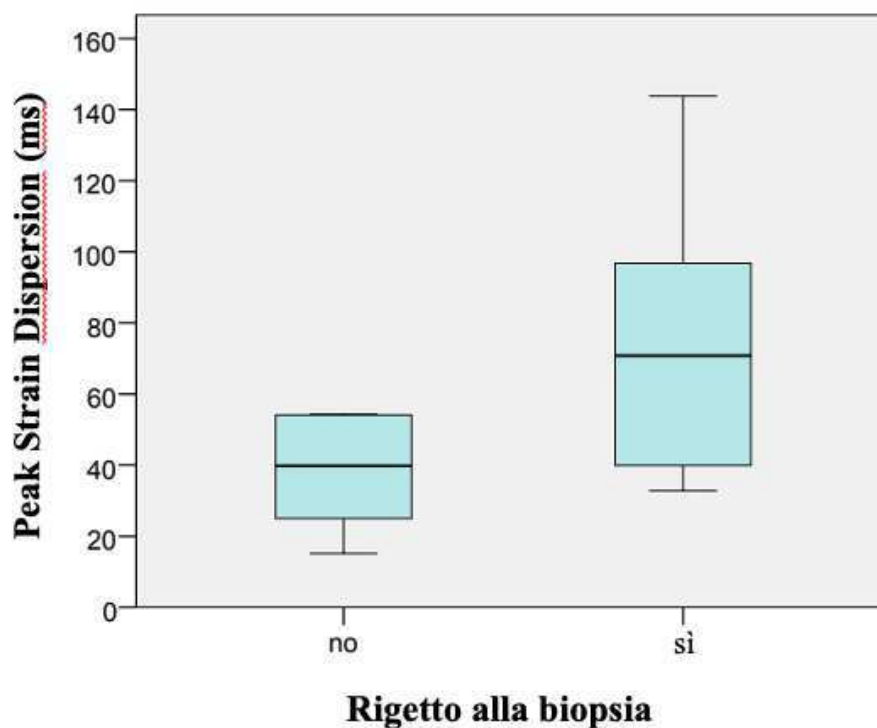


Figura 18: differenza significativa fra il PSD del gruppo rigetto no-rigetto sì ($p=0,036$).

Il confronto fra i pazienti del gruppo di rigetto sì e rigetto no è possibile in quanto, dall'analisi dei dati antropometrici e dei parametri vitali, non si evidenziano differenze statisticamente significative eccetto per gli anni dal trapianto, con $p=0,015$. Questo si verifica in quanto gli episodi di rigetto acuto sono molto più probabili durante il primo anno post-trapianto. L'analisi è stata condotta attraverso t di Student per dati appaiati. In ogni caso, nessun fattore confondente limita il confronto fra i due gruppi. In tabella X si riportano le variabili antropometriche e i parametri vitali stratificati per i due gruppi, con le rispettive medie e deviazioni standard.

	rigetto alla biopsia	N	Media	Deviazione std.
age (years)	no	8	16,43	7,220
	yes	13	14,09	3,426
Years from transplantation	no	8	7,6250	5,99376
	yes	13	2,8054	2,19164
peso (kg)	no	8	40,988	21,7078
	yes	13	46,600	17,2712
altezza (cm)	no	8	147,000	36,4300
	yes	13	148,615	19,6915
BMI (kg/m ²)	no	8	17,2763	4,08979
	yes	13	20,5631	5,06297
FC (bpm)	no	8	103,50	12,995
	yes	13	101,38	15,830
PAS (mmHg)	no	8	116,88	16,348
	yes	13	110,62	11,199
PAD (mmHg)	no	8	74,50	11,339
	yes	13	65,15	10,383

Tabella X: variabili antropometriche e parametri vitali presentati dai due gruppi.

4.4.2 Confronto ecocardiografia rigetto – post rigetto

In secondo luogo, abbiamo confrontato i parametri ecocardiografici, di base e avanzati, nello stesso paziente ma in due momenti differenti: al momento dell'episodio di rigetto e ad un mese dallo stesso. Dunque, ci siamo concentrati sulla variazione di tali parametri. Anche in questo caso, l'unica variazione statisticamente significativa evidenziata è stata del PSD con $p=0,018$. Per cui, ad un mese dall'episodio del rigetto, si verifica una diminuzione significativa del PSD (figura 19). L'analisi è stata condotta attraverso il test t di Student per dati appaiati.

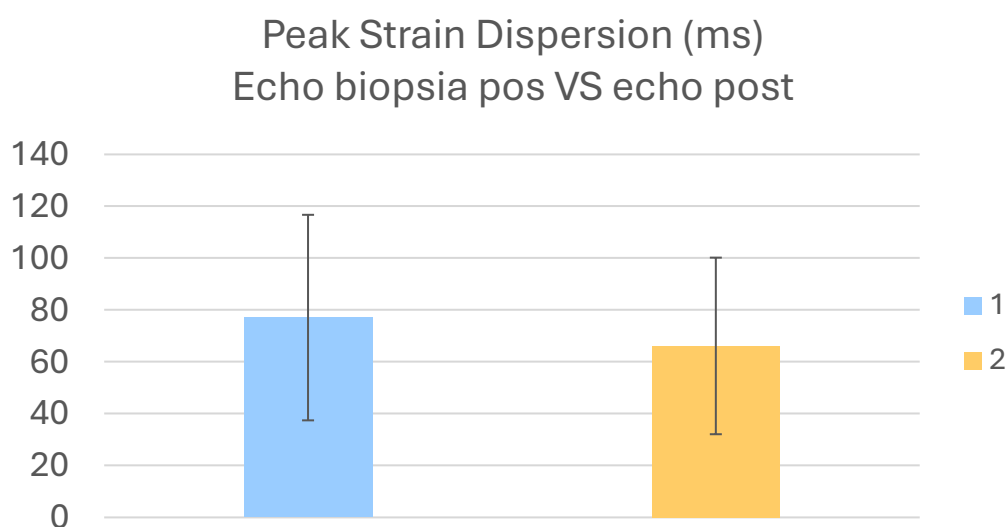


Figura 19: differenza significativa fra il PSD al momento del rigetto e ad un mese dallo stesso ($p=0,018$). 1= eco biopsia positiva; 2= eco post

4.4.3 Confronto ecocardiografia rigetto - no rigetto

Abbiamo poi valutato esclusivamente i pazienti che hanno avuto almeno un episodio di rigetto. Abbiamo dunque confrontato l'ecocardiografia acquisita al momento dell'episodio di rigetto e l'ecocardiografia acquisita, nello stesso paziente, al momento di una biopsia negativa, dunque in assenza di rigetto. Dall'analisi dei dati, è emersa una diminuzione statisticamente significativa dei valori di E' average ($p=0,024$) e del GCW ($p=0,045$) al momento del rigetto (figure 20 e 21); infine, anche lo strain della FW del ventricolo destro è

risultato significativamente ($p=0,032$) più negativo in assenza di rigetto (figura 22). Anche in questo caso, l'analisi statistica è stata condotta attraverso il test t di Student per dati appaiati. I valori ecocardiografici presentati dai pazienti al momento della biopsia negativa sono presentati nelle tabelle XI e XII.

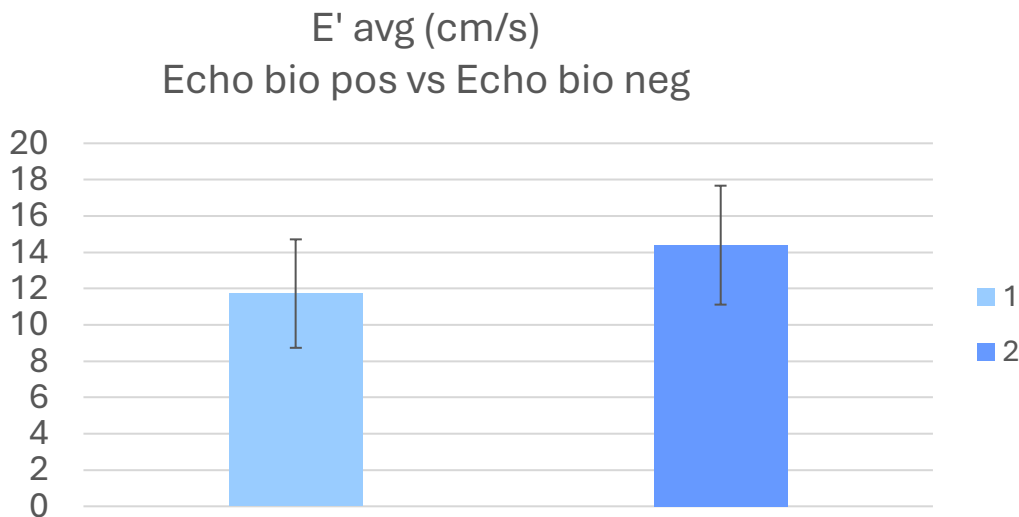


Figura 20: differenza significativa fra l'E' al momento del rigetto e in assenza dello stesso ($p=0,024$) nello stesso paziente. 1= eco biopsia positiva; 2= eco biopsia negativa.

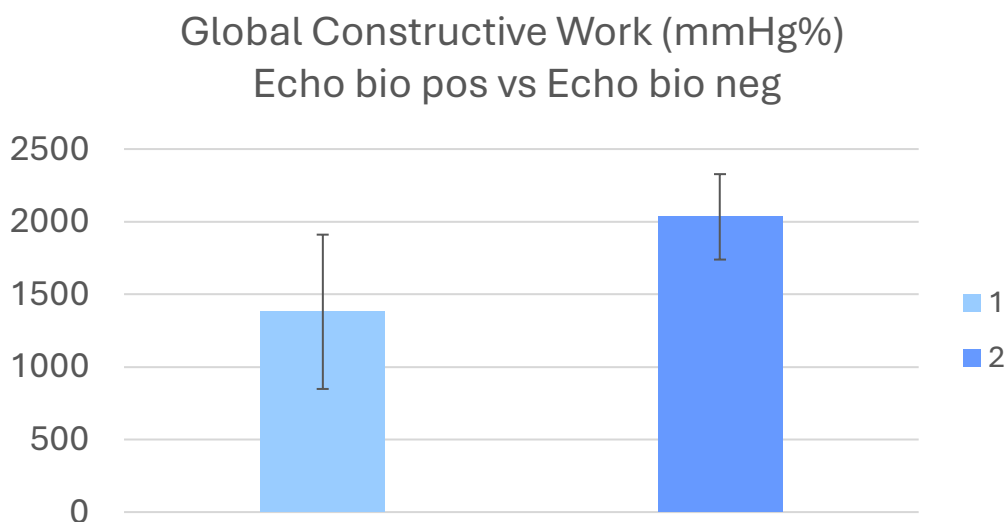


Figura 21: differenza significativa fra il GCW al momento del rigetto e in assenza dello stesso ($p=0,045$) nello stesso paziente 1= eco biopsia positiva; 2= eco biopsia negativa.

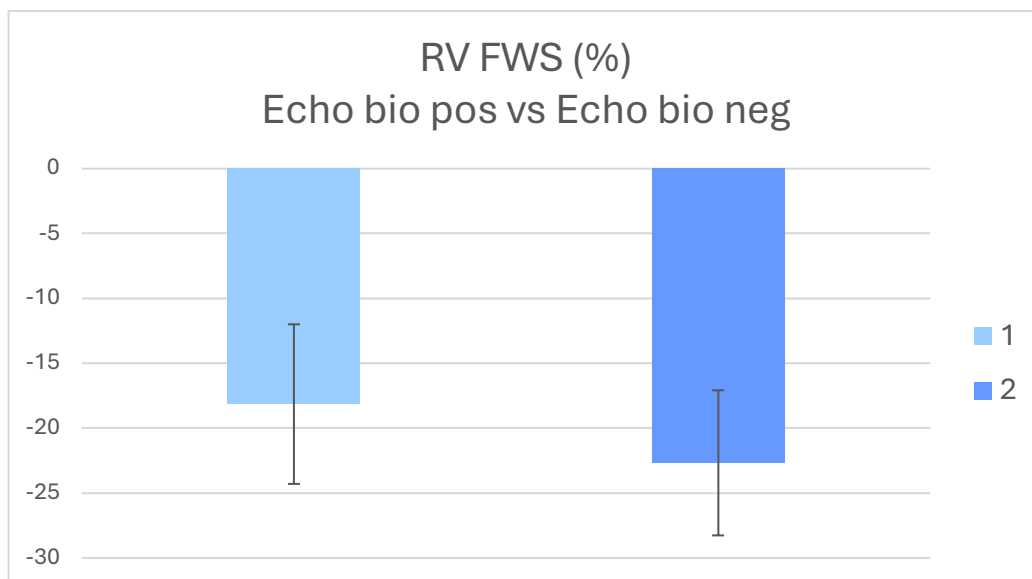


Figura 22: differenza significativa fra il RV FWS al momento del rigetto e in assenza dello stesso ($p=0,032$) nello stesso paziente 1= eco biopsia positiva; 2= eco biopsia negativa.

	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo
GLS bioneg (%)	-17,5	2,8	-20,7	-12,0
PSD bioneg (ms)	87,5	44,2	56,2	118,7
IVSd bioneg (mm)	9,4	1,8	7,0	12,0
LVPWd bioneg (mm)	9,9	2,2	7,0	13,0
E/A bioneg	1,83	,33	1,35	2,33
deceleration time bioneg (ms)	139	40	87	194
E/E' avg bioneg	6,27	1,52	4,11	8,60
E' avg bioneg (cm/s)	14,44	3,50	9,00	19,00
global work index bioneg (mmHg%)	1552	279	1091	1800
global constructive work bioneg (mmHg%)	2113	223	1752	2297
global wasted work bioneg (mmHg%)	123	115	13	332
global work efficiency bioneg (%)	94	4	87	99
TAPSE bioneg (mm)	14,5	4,7	8,0	24,0
S' wave RV bioneg (cm/s)	9,14	2,04	5,00	11,00
FAC bioneg (%)	41	11	28	58
RV GS bioneg (%)	-20,2	4,1	-25,2	-11,3
RV FWS bioneg (%)	-22,7	5,6	-30,6	-12,0

Tabella XI: parametri eco alla biopsia negativa normalmente distribuiti.

	Mediana	Minimo	Massimo	Percentile 25	Percentile 75
EF bioneg (%)	60,5	55,0	74,0	58,5	65,5

Tabella XII: parametri eco alla biopsia negativa non normalmente distribuiti.

4.4.4 Confronto fra ecocardiografia e grado di rigetto

È stato utilizzato il test di Kruskal-Wallis per evidenziare delle differenze statisticamente significative fra i parametri ecocardiografici acquisiti al momento del rigetto e stratificati per grado di severità dell'episodio. Sono stati dunque considerati due gruppi: pazienti con rigetto lieve (1A) e pazienti con rigetto moderato-severo (2, 3A, 3B). Tuttavia, nessun parametro, né convenzionale né avanzato, è risultato variare in maniera significativa fra i due gruppi.

4.5 Ecocardiografia nel follow-up longitudinale

4.5.1 Confronto fra ecocardiografia - outcomes compositi

In primo luogo abbiamo confrontato, per ciascun paziente, i parametri ecocardiografici al primo mese post-trapianto e la presenza, o assenza, di almeno un evento definitore di outcomes. Dall'analisi dei dati emerge che l'unico parametro la cui variazione risulta significativamente significativa è il GLS ad un mese post-trapianto: i pazienti che presentano outcomes compositi hanno dei valori di GLS al primo mese significativamente diminuiti rispetto a quelli che non presentano outcomes compositi con $p=0,013$. L'analisi è stata condotta attraverso t di Student per campioni indipendenti. Nelle tabelle XIII e XIV vengono riportati i valori ecocardiografici ad un mese dal trapianto.

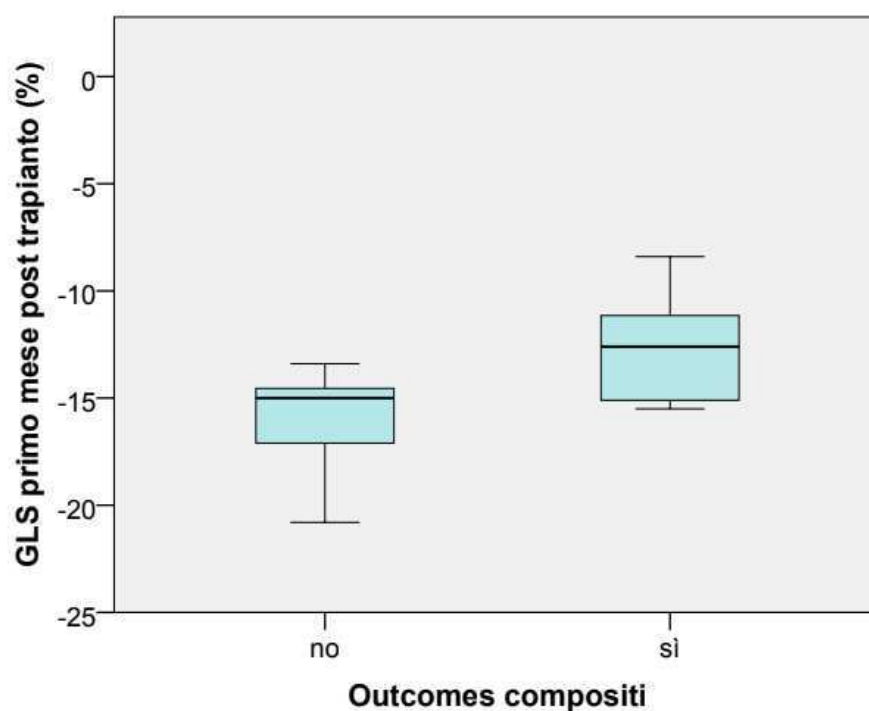


Figura 23: differenza significativa dei i valori di GLS al primo mese post-trapianto in presenza o assenza di outcomes compositi ($p=0,013$).

	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo
GLS 1 month	-14,7	2,8	-20,8	-8,4
IVSd 1 month	8,6	1,9	6,0	12,5
				14,0
EF 1 month	64,5	6,5	49,0	80,0
EA 1 month	2,2	,8	,8	3,6
DT 1 month	126	47	61	207
E/E' 1 month	8,8	3,1	5,1	16,1
E' avg 1 month	9,8	3,2	6,0	17,0
GWI 1 month	1098	193	898	1342
GCW 1 month	1433	186	1200	1690
GWW 1 month	81,6	17,5	53,0	98,0
GWE 1 month	93,8	,8	93,0	95,0
TAPSE 1 month	11,3	3,7	5,5	16,0
S' 1 month	7,8	2,8	3,4	11,0
GS 1 month	45,1	8,1	24,0	55,0
FWS 1 month	-15,8	4,5	-25,2	-4,8

Tabella XIII: parametri eco normalmente distribuiti ad un mese dal trapianto.

	Mediana	Minimo	Massimo	Percentile 25	Percentile 75
PSD 1 month	54,0	37,7	115,0	38,1	103,5
LVPWd 1 month	9,0	4,0	14,0	8,0	10,3

Tabella XIV: parametri eco non normalmente distribuiti ad un mese dal trapianto.

Successivamente, abbiamo effettuato lo stesso confronto appena spiegato, ma considerando i parametri ecocardiografici ad un anno post-trapianto. In questo caso, nessun parametro è risultato statisticamente significativo nel predire outcomes compositi. Nelle tabelle XV e XVI si riportano i valori presentati dalla popolazione in esame ad un anno dal trapianto.

	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo
GLS 12 months	-19,1	2,2	-23,3	-15,6
PSD 12 months	64,6	39,2	29,8	118,7
IVSd 12 month	7,0	1,7	4,5	10,0
LVPWd 12 month	7,5	2,2	4,0	10,0
EF 12 month	70,3	7,4	60,0	88,0
E/A 12 month	2,0	,5	1,3	3,2
DT 12 month	140	40	49	199
E' avg 12 month	14,1	2,5	9,0	17,5
GWI 12 month	1468	252	1304	1758
GCW 12 month	1995	122	1911	2135
GWW 12 month	94,3	70,5	13,0	138,0
TAPSE 12 month	16,0	3,7	12,0	24,5
GS 12 month	42,8	6,5	28,0	50,0
FWS 12 month	-19,5	4,2	-29,3	-13,6

Tabella XV: parametri eco normalmente distribuiti a 12 mesi dal trapianto.

	Mediana	Minimo	Massimo	Percentile 25	Percentile 75
E/E' 12 month	6,2	4,9	12,0	5,8	9,0
GWE 12 month	93,0	93,0	99,0	93,0	99,0
S' 12 month	9,0	8,0	13,0	8,3	10,5

Tabella XVI: parametri eco non normalmente distribuiti a 12 mesi dal trapianto.

Per approfondire ulteriormente la relazione che intercorre fra parametri di ecografia avanzata nel follow-up e outcomes compositi, abbiamo considerato anche i valori degli indici ecocardiografici medi, ottenuti dalla media dei singoli valori per ciascun paziente, e i valori degli indici ecocardiografici nadir, quindi quelli più bassi ottenuti dai pazienti durante il follow-up. Tuttavia, valutando la relazione fra tali parametri e outcomes compositi, nessuna associazione predittiva è stata evidenziata. Nelle tabelle XVII e XVIII si riportano i valori ecocardiografici medi e nadir presentati dai nostri pazienti nel corso del follow-up.

	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo
GLS average	-17,1	2,0	-21,0	-13,5
PSD average	53,2	21,5	28,2	116,0
GWI average	1385	172	1024	1636
GCW average	1874	215	1540	2183
GWW average	101	56	32	190
GWE avg	94,4	2,1	91,0	97,7
FWS avg	-19,9	4,1	-29,5	-11,7

	Mediana	Minimo	Massimo	Percentile 25	Percentile 75
GS avg	-17,1	-23,5	-11,9	-19,3	-15,5

Tabella XVII: valori medi di eco avanzato normalmente distribuiti.

	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo
GLS nadir	-14,2	2,7	-20,0	-8,4
PSD nadir	69,0	34,5	38,8	143,8
GWI nadir	1172	179	898	1387
GCW nadir	1634	303	1200	2178
GWW nadir	143	87	40	332
GWE nadir	92,4	2,9	87,0	97,0
GS nadir	-14,3	3,8	-20,1	-4,8
FWS nadir	-15,7	4,5	-25,5	-7,0

Tabella XVIII: valori nadir di eco avanzato normalmente distribuiti.

In seguito, per valutare l'oscillazione nel tempo di questi parametri, abbiamo ricercato un'associazione significativa fra la differenza dei valori ecocardiografici medi e nadir e lo sviluppo di outcomes compositi. Tuttavia, anche in questo caso, nessun'associazione è stata evidenziata. Si riportano in tabella XIX i valori del gap.

	Media	Deviazione standard	Minimo	Massimo
GLS gap	-2,9	1,5	-5,8	-,3
PSD gap	17,95	20,02	1,70	71,10
GWI gap	212,3	119,2	52,0	444,0
CGW gap	239,6	188,8	2,0	537,0
GWW gap	42,0	38,6	8,0	141,6
GWE gap	2,0	1,2	,5	4,0
GS gap	-3,2	2,1	-8,9	-,5
FWS gap	-4,3	2,4	-9,0	-,1

Tabella XIX: valori del gap dei parametri di eco avanzato, ottenuti dalla differenza dei valori medi e nadir.

4.5.2 Confronto assistenza ventricolare – outcomes compositi

Abbiamo inoltre ricercato un'associazione fra l'utilizzo di assistenza meccanica al circolo (ECMO sì/no, VAD sì/no) e sviluppo di outcomes compositi. Tuttavia, nessuna associazione è stata evidenziata.

4.5.3 Confronto fra ecocardiografia - rigetto

In seguito, abbiamo confrontato, per ciascun paziente, i valori ecocardiografici al primo mese post-trapianto e lo sviluppo di rigetto precoce, durante il primo anno post-trapianto, tardivo, dopo il primo anno post-trapianto, o assenza di rigetto. L'analisi dei dati suggerisce che l'unico parametro la cui variazione sembra essere statisticamente significativa è il GLS ad un mese dal trapianto ($p=0,029$), che risulta diminuito nei pazienti che sviluppano rigetto nel corso del follow-up (figura 24). In questo caso, l'analisi fra i diversi gruppi è stata condotta attraverso ANOVA univariata. Approfondendo l'analisi fra i gruppi, nessuna differenza significativa è stata evidenziata fra i parametri ecocardiografici dei pazienti che hanno presentato rigetto precoce e tardivo, ma esclusivamente fra i pazienti che hanno presentato rigetto (precoce e tardivo) e pazienti che non hanno avuto nessun episodio di rigetto.

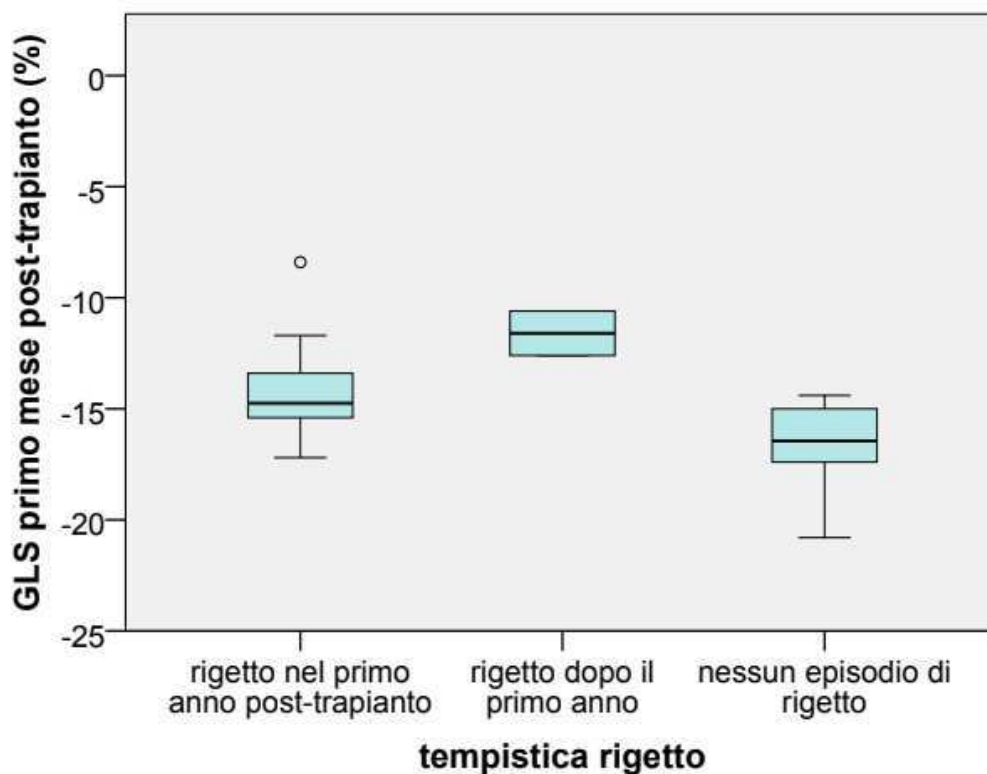


Figura 24: differenza statisticamente significativa del GLS al primo mese fra i pazienti con rigetto e senza rigetto ($p= 0,029$).

Anche in questo caso, abbiamo ripetuto la stessa analisi appena descritta considerando i parametri ecocardiografici ad un anno nei tre gruppi di pazienti. In questo caso, è stata evidenziata una variazione significativa degli spessori ventricolari e del LVEF. Nello specifico, gli spessori della parete posteriore e del setto interventricolare risultano essere aumentati nei pazienti che presentano il rigetto nel primo anno con una $p= 0,022$ e $0,037$ rispettivamente (figure 25 e 26). La frazione d'eiezione del ventricolo sinistro risulta invece significativamente inferiore nei pazienti che presentano rigetto durante il primo anno ($p= 0,024$) (figura 27). Anche in questi casi, l'analisi fra i gruppi è stata approfondita attraverso ANOVA univariata. Ed è emerso che per IVSd, LVPWd e EF la differenza statisticamente significativa interessa i pazienti che vanno incontro a rigetto nel primo anno post-trapianto in confronto ai pazienti che non hanno rigetto. Nessuna differenza è stata evidenziata fra i pazienti con rigetto nel primo anno e dopo il primo anno.

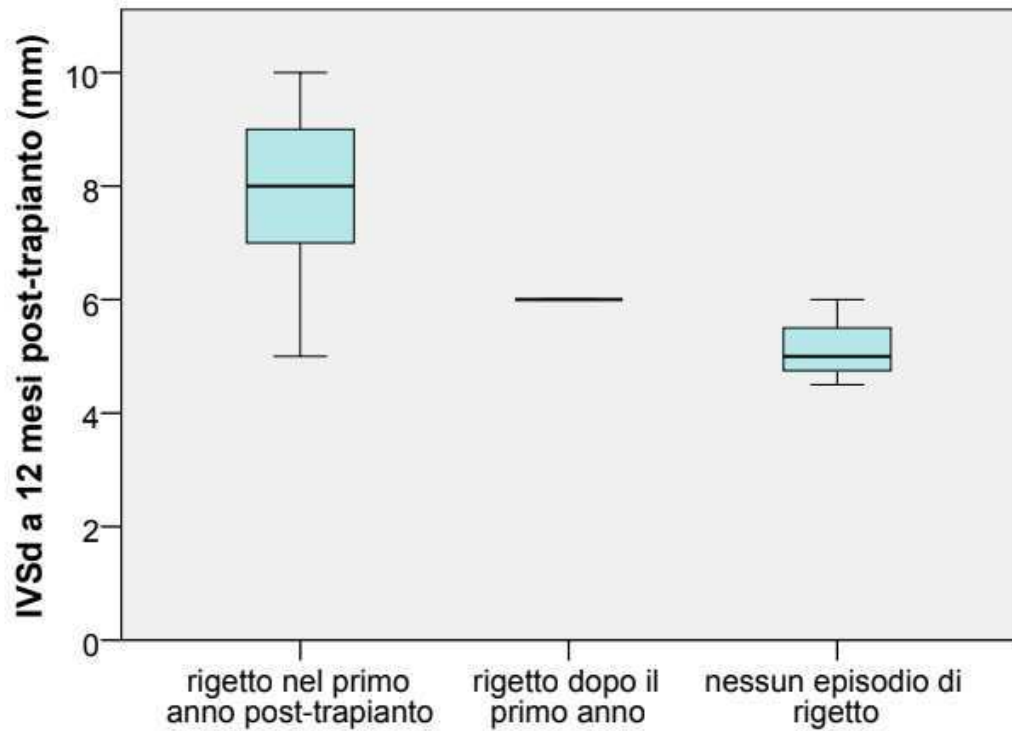


Figura 25: variazione significativa del IVSd a 12 mesi dal trapianto in relazione alle tempistiche di rigetto ($p=0,022$).

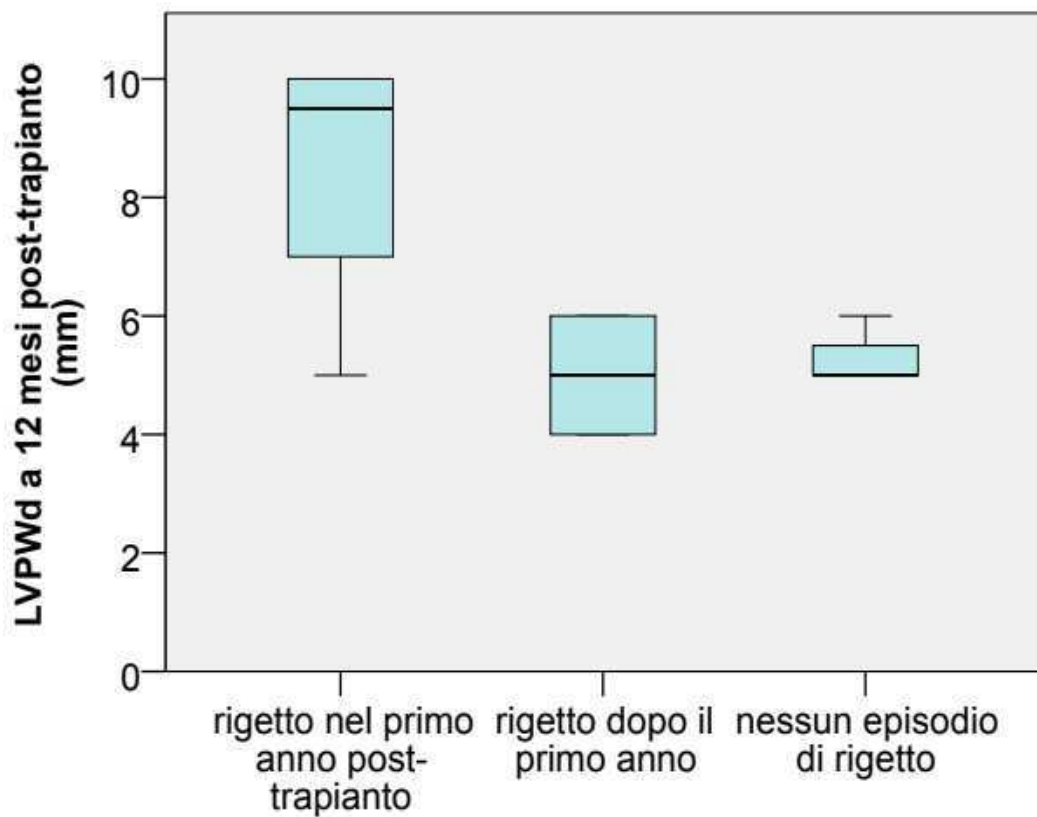


Figura 26: variazione significativa del LVPWd a 12 mesi dal trapianto in relazione alle tempistiche di rigetto ($p=0,037$).

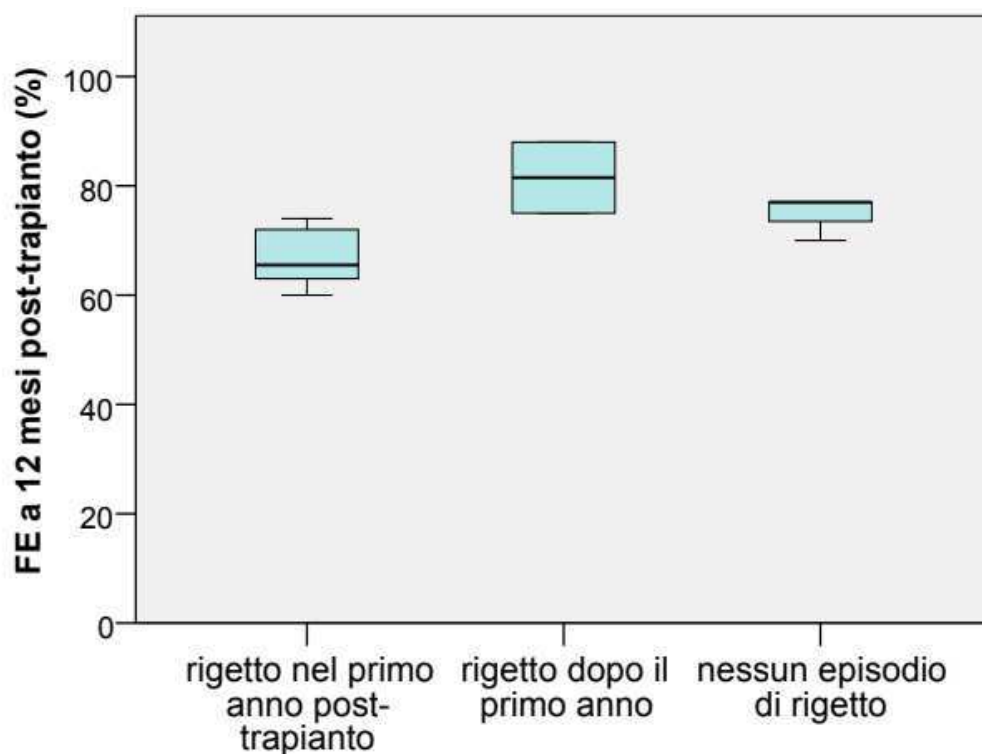


Figura 27: variazione significativa del FE a 12 mesi dal trapianto in relazione alle tempistiche di rigetto ($p=0,024$).

4.6 Ecocardiografia ed età

Nell'ultima fase del nostro studio ci siamo concentrati sulla correlazione fra parametri di ecocardiografia avanzata e l'età dei pazienti. Gli unici parametri che variano in maniera statisticamente significativa in relazione all'età dei pazienti sono relativi esclusivamente allo strain del ventricolo destro: sia il GS che il FWS risultano essere più negativi quando l'età è più bassa con $p=0,008$ e $p=0,048$ rispettivamente. Si riportano i grafici che mostrano questa associazione in figure 28 e 29.

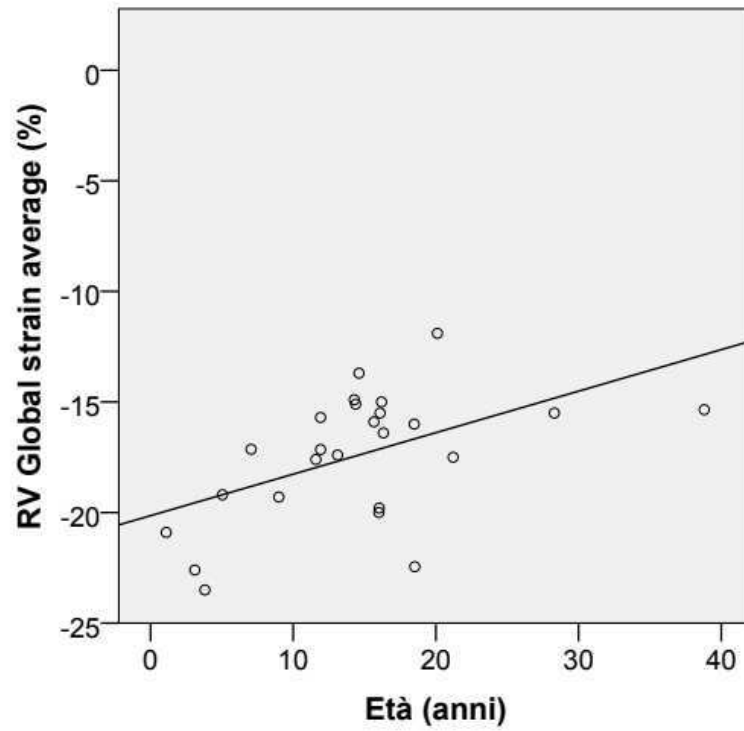


Figura 28: variazione significativa del RV GS in relazione all'età dei pazienti (p=0,008).

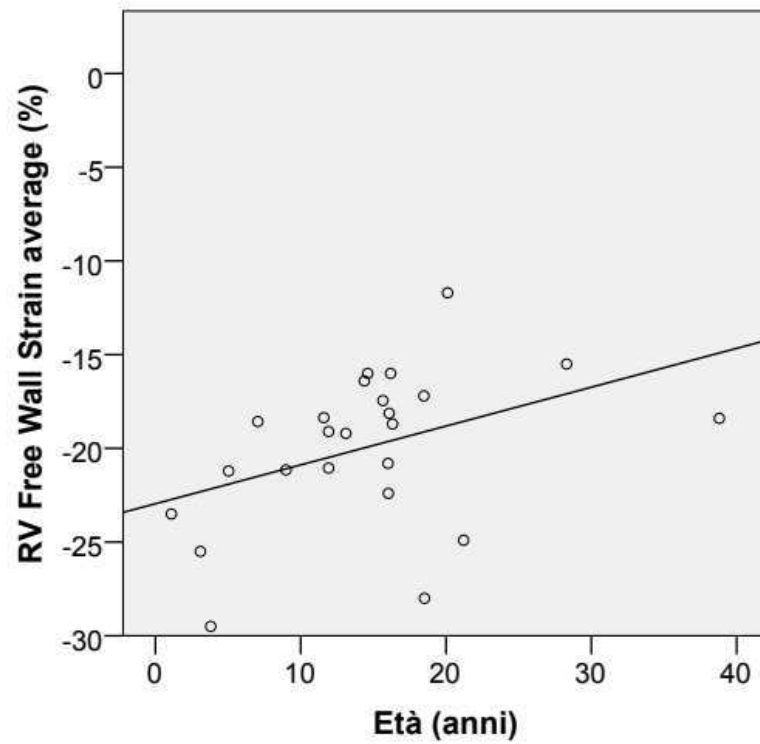


Figura 29: variazione significativa del RV FWS in relazione all'età dei pazienti (p=0,048).

5. DISCUSSIONE

Il nostro studio è il primo che esplora il ruolo di parametri ecocardiografici avanzati, quali il PSD e il MW come predittori di rigetto acuto nei pazienti pediatrici sottoposti a trapianto cardiaco.

I principali risultati sono: a) il PSD come unico indice ecocardiografico avanzato che permette di distinguere i pazienti che hanno avuto almeno un episodio di rigetto dai pazienti che non hanno mai avuto episodi; b) il GLS ad un mese dal trapianto è predittivo di outcomes compositi; c) il GCW e RV FWS come unici parametri di eco avanzato che variano significativamente al momento dell'episodio di rigetto rispetto all'assenza dello stesso nel singolo paziente.

Il nostro studio si caratterizza, anche rispetto agli altri studi in letteratura, per la stretta vicinanza fra ecocardiografia e biopsia: per ogni paziente abbiamo raccolto i dati dell'ecocardiografia eseguita a 24-48h ore dalla biopsia di riferimento. Questo ha dunque permesso di riflettere con precisione l'episodio di rigetto acuto al quadro ecocardiografico. Inoltre, nella valutazione del follow-up longitudinale del singolo paziente, sono stati raccolti i dati ecocardiografici ad 1-3-6-12 mesi post trapianto, seguiti poi da un ecocardio ogni 6 mesi. Queste molteplici e seriate valutazioni hanno dunque permesso di ricostruire in modo dettagliato l'oscillazione nel tempo dei valori per singolo paziente.

5.1 Caratteristiche della popolazione generale

Nella coorte oggetto di studio, i pazienti sottoposti a trapianto cardiaco sono prevalentemente di sesso maschile (72%). Questo risulta in contrasto con quanto riportato in letteratura, in cui non si evidenziano differenze significative fra i due sessi in età pediatrica (85). La maggior parte dei pazienti afferenti al nostro centro è stata trapiantata nella fascia d'età 11-17 (60%), in linea con quanto riportato in letteratura. Per quanto riguarda le indicazioni all'intervento, il quadro riflette quello generale: la principale indicazione è rappresentata dalla cardiomiopatia dilatativa (52%), seguita dalle cardiopatie congenite e cardiomiopatia ipertrofica (entrambe rappresentanti il 16%). Quattro pazienti sono stati trapiantati per cardiopatie di altra eziologia, ovvero 2 pazienti per cardiopatia ipocinetica-dilatativa verosimilmente secondaria al

trattamento chemioterapico, 1 paziente per cardiopatia di natura non determinata e 1 paziente per interessamento cardiaco in sclerodermia. Valutando l'indicazione a trapianto cardiaco per fasce d'età, si nota come nel nostro centro gli infanti (< 1 anno) vengono quasi esclusivamente trapiantati per cardiomiopatia dilatativa, mentre i pazienti trapiantati per cardiopatie congenite appartengono prevalentemente alla fascia d'età 11-17. La CMI risulta essere pressoché un'indicazione esclusiva degli adolescenti, mentre la CMD è un'indicazione trasversale a tutte le fasce d'età.

Come evidenziato dai dati epidemiologici del nostro centro, la maggior parte dei piccoli pazienti viene trapiantato d'urgenza (6). Ne consegue che più della metà dei nostri pazienti (56%) necessita di un dispositivo di assistenza meccanica al circolo, di cui il 24% è stato condotto all'intervento cardiaco tramite l'impianto di ECMO, seguito poi dal VAD; il 32% è invece stato condotto all'intervento cardiaco esclusivamente tramite l'utilizzo di VAD. Si nota quindi che anche nel nostro centro è limitato l'utilizzo dell'ECMO in relazione al VAD o al cuore artificiale totale.

5.2 Outcomes

Nel nostro studio, nessun paziente ha presentato CAV, mortalità durante lo studio, ritrapianto di cuore o di altri organi. Questo potrebbe rappresentare sicuramente un limite del nostro studio. Tuttavia, il numero ristretto dei pazienti arruolati e la bassa prevalenza degli eventi considerati giustifica l'assenza degli stessi. Un unico paziente ha presentato episodi aritmici di TPSV nell'immediato post-operatorio, durante il quale è più alto il rischio aritmico, e solo due pazienti hanno sviluppato neoplasie. Come riportato in letteratura, la popolazione pediatrica cardiotrapiantata è particolarmente suscettibile allo sviluppo di neoplasie ematologiche linfoproliferative secondarie all'immunosoppressione indotta nel post-trapianto. Nella nostra popolazione, coerentemente, i due pazienti di cui sopra hanno sviluppato una LMC e linfoma a cellule B maturo ad alto grado EBV+. Per quanto concerne i ricoveri per motivi cardiologici, 6 dei nostri pazienti sono stati ricoverati per lo più per rigetto clinicamente significativo che ha comportato un trattamento immunosoppressivo endovenoso. Fra questi, un paziente è stato ricoverato per lo sviluppo di una miocardite a cellule giganti. Inoltre, 6 pazienti sono stati ricoverati per motivi non cardiologici prevalentemente per sviluppo di IRA secondari al trattamento

immunosoppressivo. In ogni caso, la complicità maggiormente rappresentata nella nostra popolazione è stato il rigetto acuto. Fra i nostri pazienti il 52% ha avuto almeno un episodio di rigetto, il 32% non ha mai avuto un episodio e il 16% non ha mai effettuato una biopsia. Quest'ultimi pazienti non sono mai stati sottoposti a EMB in quanto sono molto piccoli o presentano delle anomalie vascolari tali da sbilanciare il rapporto rischio-beneficio verso la maggior probabilità di sviluppo di complicanze procedurali. In più, al momento, non vi è nessuna linea guida che determina un timing preciso con cui devono essere effettuate queste valutazioni invasive, in particolar modo nella popolazione pediatrica. In questo contesto, è ancora più evidente la necessità di sviluppare metodiche non invasive che permettano di monitorare questi pazienti e predire lo sviluppo di complicanze in assenza di rischi. La maggior parte degli AR si è verificata nel primo anno post-trapianto in cui, come riportato in letteratura, è massimo il rischio di sviluppo di questa complicanza. In più, dall'analisi dei nostri dati, gli adolescenti della fascia d'età 11-17 anni sembrerebbero maggiormente a rischio di sviluppare AR durante il primo anno rispetto ai soggetti di età inferiore. Questo potrebbe essere giustificato con una maggior immaturità del sistema immunitario e un minor grado di sensibilizzazione agli antigeni dei piccoli pazienti rispetto agli adolescenti. Quasi tutti i pazienti hanno sviluppato AR di tipo cellulare, mentre solo 1 paziente ha presentato un episodio di rigetto umorale.

5.3 Valori ecocardiografici medi

L'acquisizione dei dati di ecocardiografia avanzata in più momenti durante il follow-up ha permesso di valutarne i valori medi nella nostra popolazione. In assenza di una popolazione pediatrica sana arruolata nel nostro studio, il confronto dei valori ottenuti dovrebbe essere impostato con quanto riportato in letteratura. Tuttavia, quest'ultima non fornisce tutti i valori di eco avanzato di riferimento nella popolazione cardiotrapiantata e pediatrica sana. In particolar modo, sono assenti in letteratura i valori di riferimento del PSD e di strain del ventricolo destro (RV FWS, GS).

Il GLS medio presentato dalla nostra popolazione è di $-17,1 \pm 2$. Da una revisione degli studi presenti in letteratura condotta da Levy et al. (86) si evince che il GLS medio nella popolazione pediatrica sana è di circa $-20,2\%$ (IQR $-19,5\%$ al $-20,8\%$). Pertanto, nella nostra popolazione e, in generale, nella popolazione pediatrica cardiotrapiantata

i valori medi di GLS risultano essere mediamente inferiori. Per quanto riguarda gli indici di MW, la nostra popolazione presenta GWI medio di 1385 ± 172 , GCW medio di 1874 ± 215 , GWW medio di 101 ± 56 e GWE medio di $94,4 \pm 2,1$. Dal confronto dei valori ottenuti nella nostra popolazione rispetto a quelli presentati dall'analisi di 150 bambini sani condotta da Sabatino et al. (87) si evince che i valori medi di GWI e GCW risultano diminuiti nella popolazione cardiotrapiantata rispetto a quella sana; al contrario, il GWW risulta essere aumentato nella popolazione cardiotrapiantata rispetto a quella sana. Ne consegue un GWE diminuito.

5.4 Ecocardiografia e rigetto

In primo luogo, il nostro studio si è focalizzato sulla relazione che intercorre fra ecocardiografia e rigetto. Dividendo i nostri pazienti nei due gruppi rigetto sì/no, confrontabili in virtù dell'assenza di fattori confondenti, è emerso che questi vengono differenziati dal PSD. Questo è un tempo in millisecondi che esprime la sincronia della contrazione dei segmenti miocardici. Risulta aumentato nei pazienti che hanno avuto almeno un episodio di rigetto, dunque indica che la contrazione dei segmenti miocardici in questi pazienti ha un grado di dissincronia aumentato rispetto ai pazienti che non hanno avuto rigetto. Abbiamo poi valutato quali parametri variassero significativamente fra l'eco eseguito al momento del rigetto e quello ad un mese dallo stesso. È emerso che ciò che si verifica è una diminuzione del PSD, dunque un aumento della sincronia dei segmenti miocardici, come probabile effetto della terapia e risoluzione parziale o totale del quadro clinico.

Tuttavia, al di là dell'utilità del PSD come parametro di eco avanzato, ciò che emerge da questi primi dati è che il confronto fra gruppi di pazienti è pressoché infruttuoso. Questo deriva dal fatto che questi pazienti presentano dei valori ecocardiografici basali molto eterogenei fra di loro, rendendo dunque difficile il confronto fra questi in relazione agli outcomes presentati. Alla luce di ciò, è sicuramente più informativo valutare l'andamento dei parametri ecocardiografici nel tempo di uno stesso paziente. Per tale motivo, abbiamo confrontato l'ecocardiografia eseguita al momento del rigetto e quella eseguita in assenza di rigetto nello stesso paziente. Questo confronto è stato valutato in quanto ad un mese dal trapianto il rigetto potrebbe non essere regredito completamente; pertanto, per avere un reale confronto, è necessario valutare

un'ecocardiografia eseguita in assenza di rigetto. In questo caso, al momento del rigetto si verifica una diminuzione dell'E', ottenuto dalla media dell'E' laterale e settale, e del GCW. Inoltre, al momento del rigetto si registrano valori meno negativi del RV FWS. Pertanto, questi pazienti al momento del rigetto presentano un impairment precoce della diastole, che si riflette nella diminuzione dell'E' medio. Di fatto, il meccanismo fisiopatologico che sottende l'AR interessa precocemente la fase di riempimento per la formazione di edema, l'infiltrazione della parete miocardica e la conseguente fibrosi. Tale aspetto è coerente con i dati di letteratura.

Al contempo, durante AR si verifica una diminuzione del lavoro positivo svolto dal miocardio (GCW). Questo risultato è in contraddizione a quanto riportato nello studio di Otto et al. (80). Gli autori hanno valutato l'associazione fra il MW e ACR in pazienti adulti cardiotrapiantati durante il primo anno post-trapianto, evidenziando un aumento significativo del GWE nei pazienti ACR positivi. Gli autori spiegano questo risultato come un meccanismo di compenso dovuto ad un aumento del post carico e un aumento dei valori pressori medi della popolazione cardiotrapiantata. Al contrario, nella nostra popolazione, una diminuzione del GCW in concomitanza dell'episodio di rigetto dovrebbe riflettersi in una diminuzione del GWE a parità di GWW. Tuttavia, la popolazione oggetto di studio di Otto et al. differisce per molteplici aspetti da quella da noi considerata: si tratta di pazienti adulti, con fattori di rischio cardiovascolari quali diabete e ipertensione, e con malattia di Chagas nel 74% dei pazienti arruolati. Inoltre, i nostri pazienti non presentano differenze significative dei valori pressori.

In aggiunta, durante l'episodio di rigetto si verifica nei nostri pazienti anche un peggioramento dei valori di strain del ventricolo destro. Questo aspetto interessante riflette quanto evidenziato dalla metanalisi condotta da Zhu et al. (77). Riflettendo sul risultato appena descritto, è interessante notare come lo strain del ventricolo sinistro sembrerebbe non essere significativamente differente in presenza o assenza di rigetto nello stesso paziente. Una possibile spiegazione risiede nel fatto che la disposizione longitudinale delle fibre miocardiche del ventricolo sinistro è limitato all'endocardio. Per cui, queste ultime, la cui funzionalità è riflessa nel GLS, risentono maggiormente del danno ischemico piuttosto che del danno ossido-riduttivo che si verifica in concomitanza del rigetto. Dunque, l'alterazione del GLS potrebbe maggiormente correlare con la presenza di CAV. In questo scenario sarebbe più utile valutare lo strain circonferenziale e radiale che riflettono la deformazione della restante porzione della parete del ventricolo sinistro e che potrebbero quindi maggiormente correlare con AR.

Tuttavia, questo non è stato possibile nel nostro studio, ne rappresenta una limitazione e una prospettiva futura. Il ventricolo destro, al contrario, è costituito quasi esclusivamente da fibre longitudinali. Pertanto, risulta coerente il coinvolgimento esclusivo dello strain del ventricolo destro durante l'episodio di AR.

Nessuna differenza è stata poi evidenziata fra i parametri ecocardiografici stratificati per il grado di rigetto presentato dai pazienti. Questo permette di sottolineare ulteriormente il concetto di base del nostro studio, secondo cui il confronto fra diversi pazienti risulta del tutto infruttuoso.

5.5 Ecocardiografia nel follow-up longitudinale

La seconda grande sezione del nostro studio è incentrata sulla valutazione longitudinale del singolo paziente nel tempo. Dapprima, abbiamo valutato l'associazione fra i parametri ecocardiografici ad un mese dal trapianto e la presenza di outcomes compositi. Questo ha permesso di evidenziare un peggioramento, con valori meno negativi, del GLS ad un mese nei pazienti che presentano almeno un evento definitore di outcomes. Tale valutazione è stata poi ripetuta con i parametri ecocardiografici ad un mese ma, in questi caso, nessuna associazione è stata rilevata. Pertanto, un valore meno negativo di GLS ad un mese espone maggiormente a rischio di sviluppare complicanze durante il follow-up. Tuttavia, questa stessa condizione non viene rispettata da nessun parametro ecocardiografico ad un anno. Bisogna quindi considerare che la predittività del GLS ad un mese potrebbe essere influenzata da molteplici fattori, fra cui il tempo di ischemia dell'organo trapiantato, l'utilizzo dell'assistenza meccanica al circolo nel pre-trapianto, il danno da riperfusione e l'infiammazione sistemica dell'immediato post-operatorio. Inoltre, molti pazienti presentano dei valori ecocardiografici più bassi proprio in concomitanza del primo mese post-trapianto, con una tendenza in ascesa nei mesi successivi.

Alla luce di ciò, per valutare l'impatto effettivo del follow-up dei pazienti, a fronte di una forte oscillazione dei parametri ecocardiografici nel tempo, abbiamo preso in considerazione anche la media degli stessi e i valori nadir. Abbiamo quindi valutato l'associazione di questi con gli outcomes compositi. Tuttavia, nessun'associazione è stata evidenziata. In ogni caso, questo risultato è in linea con quanto precedentemente descritto:

la valutazione della media e dei valori nadir è effettuata fra pazienti che hanno valori molto eterogenei fra di loro, per cui, ancora una volta, si evidenzia il concetto secondo cui l'unico confronto effettivamente utile ai fini della predittività in questi pazienti è quello della tendenza nel tempo del singolo. Dunque, per cercare di valorizzare l'andamento nel tempo del singolo paziente, abbiamo valutato il delta ottenuto dalla differenza del valore medio e nadir del singolo paziente. Questo fornisce quindi una misura di quanto si discosta il paziente dal suo valore medio. Tuttavia, anche in questo caso non è stata evidenziata alcuna associazione. Sicuramente, il fatto di non eseguire la EMB nel momento in cui si verifica una variazione importante nella tendenza dei valori ecocardiografici del singolo paziente può parzialmente spiegare l'assenza di correlazione con quanto appena descritto. Probabilmente, sono coinvolti anche ulteriori fattori che possono essere la non riproducibilità dei valori ecocardiografici avanzati o la poca accuratezza di questa metodica come strumento predittivo. Tuttavia, questa rimane ancora una questione aperta da approfondire ulteriormente.

Valutando ancora l'associazione con gli outcomes compositi, si è approfondito il ruolo dell'assistenza ventricolare. In questo caso, non si verifica alcuna correlazione fra l'utilizzo dell'assistenza meccanica al circolo, sia VAD che ECMO, e lo sviluppo di outcomes compositi. Questo dato risulta in contrasto con quanto riportato in letteratura, in cui si evidenzia un peggioramento della prognosi per quei pazienti che vengono condotti a trapianto cardiaco con l'utilizzo di ECMO. Ciò, invece, non è riportato per l'utilizzo di VAD o cuore artificiale totale. Tuttavia, questo dato apparentemente contrastato, può essere interpretato come una conseguenza del numero limitato dei pazienti con ECMO nel nostro studio e del fatto che fra gli outcomes compositi non sono state considerate le sequele neurologiche.

Come ultima analisi, abbiamo valutato l'associazione fra ecocardiografia e AR come evento specifico definitore di outcomes. L'analisi dei valori ecocardiografici ad un mese post-trapianto ha permesso di evidenziare che il GLS ad un mese risulti utile nel distinguere i pazienti che hanno avuto almeno un episodio di rigetto da pazienti che non hanno avuto nessun episodio. Pertanto, un valore meno negativo di GLS ad un mese sembrerebbe esporre i pazienti ad un maggior rischio di sviluppare eventi avversi, tra cui l'AR.

Ripetendo la stessa analisi per i parametri ecocardiografici ad un anno, si è notato come gli spessori ventricolari, del setto e della parete posteriore, sono significativamente aumentati nei pazienti che hanno avuto un episodio di rigetto nel

primo anno post-trapianto. Coerentemente, la frazione di eiezione ad un anno è significativamente inferiore nei pazienti che hanno avuto un episodio di rigetto durante il primo anno. Chiaramente, questi parametri di ecocardiografia di base sono puramente descrittivi in quanto rappresentano la naturale conseguenza di un episodio di rigetto acuto. Essendo alterati solo a seguito dell'effettiva presenza dell'episodio di rigetto, non hanno alcun valore predittivo. Le nostre analisi permettono dunque di concludere che i parametri di ecocardiografia di base sono inadeguati nel predire eventi di outcomes nei pazienti cardiotrapiantati. Al contrario, l'ecocardiografia avanzata, comprendente 2D-STE e il MW, sembra avere un ruolo promettente.

5.6 Ecocardiografia ed età

L'ultima sezione del nostro studio ha valutato se vi fossero delle differenze significative fra i parametri di ecocardiografia avanzata e l'età dei pazienti cardiotrapiantati. È emerso che all'aumentare dell'età dei pazienti si verifica un peggioramento dei valori di strain del ventricolo destro, sia globale che della parete libera. Questo risultato riflette il fisiologico declino della funzionalità ventricolare del graft nel corso del tempo che interessa in prima battuta il ventricolo destro, in virtù dello spessore minore della parete e della disposizione prevalentemente longitudinale delle fibre miocardiche. Queste caratteristiche aumentano la suscettibilità al danno del ventricolo destro.

6. LIMITAZIONI

Sebbene i dati riportati dal nostro studio siano innovativi e promettenti, siamo consapevoli della presenza di alcune limitazioni. In primo luogo, nonostante siano stati inclusi tutti i pazienti attivamente seguiti dal 2008 ad oggi, la numerosità campionaria del nostro studio risulta ancora piuttosto limitata. Tuttavia, a causa dell'assenza delle immagini ecocardiografiche digitali precedenti al 2008, non è stato possibile considerare l'attività trapiantologica agli albori del nostro centro. In secondo luogo, lo studio osservazionale retrospettivo ha sicuramente delle limitazioni intrinseche come l'impossibilità di eseguire EMB di controllo nel momento in cui è stata registrata una variazione importante nel trend dei parametri eco del singolo paziente in assenza di sintomatologia. In aggiunta, sempre per la natura retrospettiva dello studio e in assenza di un protocollo specifico, le immagini ecocardiografiche sono state raccolte in maniera operatore dipendente e quindi hanno presentato un certo grado di variabilità nell'acquisizione delle proiezioni. Questo rende conto anche dell'impossibilità di calcolare in questo studio i valori di strain circonferenziale e radiale del ventricolo sinistro, in virtù dell'assenza di standardizzazione delle proiezioni ottenute. Per quanto concerne il processamento delle immagini, è da considerare un possibile grado di incompatibilità dei vendor per le immagini acquisite con ecografo Philips e processate con EchoPAC (GE). Un'ulteriore importante limitazione è l'introduzione di un bias dovuto all'assenza nel nostro studio di pazienti con CAV, mortalità, ritrapianto cardiaco o di altri organi.

7. CONCLUSIONI

In conclusione, il nostro studio dimostra l'inadeguatezza dei soli parametri ecocardiografici convenzionali nella valutazione del follow-up dei pazienti cardiotrapiantati. Al contrario, la valutazione ecocardiografica avanzata, sia di 2D-STE che MW, ha un ruolo promettente nel predire eventi avversi in questi pazienti. In particolar modo, il nostro studio ha evidenziato che il PSD risulta aumentato nei pazienti che hanno avuto almeno un episodio di rigetto. Inoltre, una diminuzione del GCW e valori meno negativi di RV FWS si registrano in concomitanza dell'episodio di rigetto. È stato inoltre mostrato che il GLS ad un mese correla con lo sviluppo di outcomes. Il concetto fondamentale derivato dall'analisi dei dati è che in questi pazienti il confronto con dei valori cut-off di riferimento, o tra i diversi pazienti, è del tutto futile. L'unica valutazione predittiva è quella dell'andamento nel tempo dei parametri ecocardiografici avanzati nel singolo paziente: una brusca variazione degli stessi dovrebbe indurre all'esecuzione di esami invasivi diagnostici per intercettare precocemente eventi avversi. Tali metodiche, al fine di essere incluse routinariamente nella pratica clinica e di permettere di personalizzare il follow-up, necessitano tuttavia di ulteriore approfondimento.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Martens S, Tie H, Kehl HG, Tjan TD, Scheld HH, Martens S, et al. Heart transplantation surgery in children and young adults with congenital heart disease. *J Cardiothorac Surg.* 2023 Nov 27;18(1):342.
2. Rossano JW, Singh TP, Cherikh WS, Chambers DC, Harhay MO, Hayes D, et al. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-second pediatric heart transplantation report – 2019; Focus theme: Donor and recipient size match. *Journal of Heart and Lung Transplantation.* 2019 Oct 1;38(10):1028–41.
3. Khush KK, Cherikh WS, Chambers DC, Harhay MO, Hayes D, Hsich E, et al. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-sixth adult heart transplantation report - 2019; focus theme: Donor and recipient size match. *J Heart Lung Transplant.* 2019 Oct;38(10):1015–66.
4. Singh TP, Cherikh WS, Hsich E, Lewis A, Perch M, Kian S, et al. Graft survival in primary thoracic organ transplant recipients: A special report from the International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2023 Oct;42(10):1321–33.
5. Barnes A, Gibson W. Pediatric heart transplant. *Semin Pediatr Surg.* 2021 Apr 1;30(2).
6. Centro Nazionale Trapianti. Valutazione di qualità dell'attività del trapianto di cuore 2002-2021. Sistema Informativo Trapianti del Centro Nazionale Trapianti (SIT-CNT) [Internet]. 2024 [cited 2024 Aug 14];40–3. Available from:
https://trapianti.sanita.it/statistiche/attivita/2023_D_QUALITA_ORGANI_CUORE_02-21.pdf
7. Ryan TD, Chin C. Pediatric cardiac transplantation. *Semin Pediatr Surg.* 2017 Aug 1;26(4):206–12.
8. ISHLT. Heart transplantation: Pediatric statistics. *JHLT* [Internet]. 2019 Oct [cited 2024 Aug 14];38(10):1015–66. Available from:
<https://ishltregistries.org/registries/slides.asp?yearToDisplay=2019>
9. Thrush PT, Hoffman TM. Pediatric heart transplantation-Indications and outcomes in the current era. *J Thorac Dis.* 2014;6(8):1080–96.
10. Hsu DT, Lamour JM. Changing indications for pediatric heart transplantation complex congenital heart disease. Vol. 131, *Circulation.* Lippincott Williams and Wilkins; 2015. p. 91–9.

11. Huddleston CB, Richey S, Fiore AC. Heart Transplantation for Congenital Heart Disease. *Operative Techniques in Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2019 Jun 1;24(2):103–20.
12. Kenny LA, DeRita F, Nassar M, Dark J, Coats L, Hasan A. Transplantation in the single ventricle population. *Ann Cardiothorac Surg*. 2018 Jan;7(1):152–9.
13. Arbelo E, Protonotarios A, Gimeno JR, Arbustini E, Barriales-Villa R, Basso C, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of cardiomyopathies. *Eur Heart J*. 2023 Oct 1;44(37):3503–626.
14. Towbin JA, Lowe AM, Colan SD, Sleeper LA, Orav EJ, Clunie S, et al. Incidence, Causes, and Outcomes of Dilated Cardiomyopathy in Children. *JAMA*. 2006 Oct 18;296(15):1867.
15. Singh TP, Almond CS, Piercey G, Gauvreau K. Current Outcomes in US Children With Cardiomyopathy Listed for Heart Transplantation. *Circ Heart Fail*. 2012 Sep;5(5):594–601.
16. Rath A, Weintraub R. Overview of Cardiomyopathies in Childhood. *Front Pediatr*. 2021 Jul 23;9.
17. Snyderman DR, Kistler KD, Ulsh P, Morris J. Cytomegalovirus Prevention and Long-Term Recipient and Graft Survival in Pediatric Heart Transplant Recipients. *Transplantation*. 2010 Dec 27;90(12):1432–8.
18. Mehra MR, Canter CE, Hannan MM, Semigran MJ, Uber PA, Baran DA, et al. The 2016 International Society for Heart Lung Transplantation listing criteria for heart transplantation: A 10-year update. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2016 Jan;35(1):1–23.
19. Ozturk P, Engin AY, Nalbantgil S, Oguz E, Ayik F, Engin C, et al. Comparison of Continuous-Flow and Pulsatile-Flow Blood Pumps on Reducing Pulmonary Artery Pressure in Patients With Fixed Pulmonary Hypertension. *Artif Organs*. 2013 Sep 11;37(9):763–7.
20. Thangappan K, Morales DLS, Vu Q, Lehenbauer D, Villa C, Wittekind S, et al. Impact of mechanical circulatory support on pediatric heart transplant candidates with elevated pulmonary vascular resistance. *Artif Organs*. 2021 Jan 25;45(1):29–37.
21. Dipchand AI, Laks JA. Pediatric heart transplantation: long-term outcomes. *Indian J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020 Aug 29;36(S2):175–89.
22. Soslow JH, Samyn MM. Multi-modal imaging of the pediatric heart transplant recipient. Vol. 8, *Translational Pediatrics*. AME Publishing Company; 2019. p. 332–8.
23. Velleca A, Shullo MA, Dhital K, Azeka E, Colvin M, DePasquale E, et al. The International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) guidelines

- for the care of heart transplant recipients. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2023 May 1;42(5):e1–141.
24. Society for cardiovascular pathology [Internet]. Classificazione e grading del rigetto. Available from: <https://www.scvp.net/tutorial-sul-rigetto-cellulare-indice/#grading-del-rigetto>
 25. Berry GJ, Burke MM, Andersen C, Bruneval P, Fedrigo M, Fishbein MC, et al. The 2013 International Society for Heart and Lung Transplantation Working Formulation for the standardization of nomenclature in the pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2013 Dec;32(12):1147–62.
 26. Chih S, Chruscinski A, Ross HJ, Tinckam K, Butany J, Rao V. Antibody-Mediated Rejection: An Evolving Entity in Heart Transplantation. *J Transplant*. 2012;2012:1–10.
 27. Loupy A, Toquet C, Rouvier P, Beuscart T, Bories MC, Varnous S, et al. Late Failing Heart Allografts: Pathology of Cardiac Allograft Vasculopathy and Association With Antibody-Mediated Rejection. *American Journal of Transplantation*. 2016 Jan;16(1):111–20.
 28. Everitt MD, Hammond MEH, Snow GL, Stehlik J, Revelo MP, Miller D V., et al. Biopsy-diagnosed antibody-mediated rejection based on the proposed International Society for Heart and Lung Transplantation working formulation is associated with adverse cardiovascular outcomes after pediatric heart transplant. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2012 Jul;31(7):686–93.
 29. Castleberry C, Pruitt E, Ameduri R, Schowengerdt K, Edens E, Hagin N, et al. Risk stratification to determine the impact of induction therapy on survival, rejection and adverse events after pediatric heart transplant: A multi-institutional study. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2018 Apr;37(4):458–66.
 30. Mylonas KS, Soukouli I, Avgerinos D V, Boletis JN. Current Immunosuppression Strategies in Pediatric Heart Transplant. *Immunotherapy*. 2022 Jun 4;14(9):663–7.
 31. Kobayashi D, Du W, L'ecuyer TJ. Predictors of cardiac allograft vasculopathy in pediatric heart transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2013 Aug;17(5):436–40.
 32. Pahl E, Naftel DC, Kuhn MA, Shaddy RE, Morrow WR, Canter CE, et al. The impact and outcome of transplant coronary artery disease in a pediatric population: a 9-year multi-institutional study. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Jun;24(6):645–51.
 33. Laks JA, Dipchand AI. Cardiac allograft vasculopathy: A review. *Pediatr Transplant*. 2022 May;26(3):e14218.

34. Neglia D, Rovai D, Caselli C, Pietila M, Teresinska A, Agudé-Bruix S, et al. Detection of significant coronary artery disease by noninvasive anatomical and functional imaging. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2015 Mar;8(3).
35. Pietra B, Boucek M. Coronary artery vasculopathy in pediatric cardiac transplant patients: the therapeutic potential of immunomodulators. *Paediatr Drugs*. 2003;5(8):513–24.
36. Dipchand AI. Current state of pediatric cardiac transplantation. *Ann Cardiothorac Surg*. 2018 Jan;7(1):31–55.
37. Conway J, Manlhiot C, Kirk R, Edwards LB, McCrindle BW, Dipchand AI. Mortality and morbidity after retransplantation after primary heart transplant in childhood: An analysis from the registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2014 Mar;33(3):241–51.
38. Chinnock R, Webber SA, Dipchand AI, Brown RN, George JF, Pediatric Heart Transplant Study. A 16-year multi-institutional study of the role of age and EBV status on PTLD incidence among pediatric heart transplant recipients. *Am J Transplant*. 2012 Nov;12(11):3061–8.
39. Lateef N, Abdul Basit K, Abbasi N, Kazmi SMH, Ansari AB, Shah M. Malignancies After Heart Transplant. *Exp Clin Transplant*. 2016 Feb;14(1):12–6.
40. Rossano JW, Cherikh WS, Chambers DC, Goldfarb S, Khush K, Kucheryavaya AY, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twentieth Pediatric Heart Transplantation Report—2017; Focus Theme: Allograft ischemic time. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2017 Oct 1;36(10):1060–9.
41. Rossano JW, Cherikh WS, Chambers DC, Goldfarb S, Hayes D, Khush KK, et al. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-first pediatric heart transplantation report-2018; Focus theme: Multiorgan Transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2018 Oct;37(10):1184–95.
42. Shah KB, Flattery MP, Smallfield MC, Merinar G, Tang DG, Sheldon EH, et al. Surveillance Endomyocardial Biopsy in the Modern Era Produces Low Diagnostic Yield for Cardiac Allograft Rejection. *Transplantation*. 2015 Aug;99(8):e75-80.
43. Lim HS, Hsich E, Shah KB. International Society of Heart and Lung Transplantation position statement on the role of right heart catheterization in the management of heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2019 Mar;38(3):235–8.

44. Zinn MD, Wallendorf MJ, Simpson KE, Osborne AD, Kirklin JK, Canter CE. Impact of routine surveillance biopsy intensity on the diagnosis of moderate to severe cellular rejection and survival after pediatric heart transplantation. *Pediatr Transplant*. 2018 May;22(3):e13131.
45. Duong SQ, Zhang Y, Hall M, Hollander SA, Thurm CW, Bernstein D, et al. Impact of institutional routine surveillance endomyocardial biopsy frequency in the first year on rejection and graft survival in pediatric heart transplantation. *Pediatr Transplant*. 2021 Sep;25(6):e14035.
46. Evers PD, Jorgensen N, Hong B, Albers E, Kemna M, Friedland-Little J, et al. Outcomes of low-intensity biopsy surveillance for rejection in paediatric cardiac transplantation. *Cardiol Young*. 2019 Jul;29(7):910–6.
47. Sciaccaluga C, Fusi C, Landra F, Barilli M, Lisi M, Mandoli GE, et al. Diastolic function in heart transplant: From physiology to echocardiographic assessment and prognosis. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Oct 31;9.
48. Badano LP, Miglioranza MH, Edvardsen T, Colafranceschi AS, Muraru D, Bacal F, et al. European Association of Cardiovascular Imaging/Cardiovascular Imaging Department of the Brazilian Society of Cardiology recommendations for the use of cardiac imaging to assess and follow patients after heart transplantation. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015 Sep 1;16(9):919–48.
49. Mondillo S, Maccherini M, Galderisi M. Usefulness and limitations of transthoracic echocardiography in heart transplantation recipients. *Cardiovasc Ultrasound*. 2008 Jan 11;6:2.
50. Garrido IP, Pascual DA, Penafiel Verdu P, Nicolas F, Valdes Chavarri M. Restrictive Allograft Physiology after Heart Transplantation: Prevalence and Associated Factors. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2008 Feb;27(2):S85.
51. Tallaj JA, Kirklin JK, Brown RN, Rayburn BK, Bourge RC, Benza RL, et al. Post-Heart Transplant Diastolic Dysfunction Is a Risk Factor for Mortality. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Sep;50(11):1064–9.
52. Olymbios M, Kwiecinski J, Berman DS, Kobashigawa JA. Imaging in Heart Transplant Patients. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2018 Oct;11(10):1514–30.
53. Klaeboe LG, Edvardsen T. Echocardiographic assessment of left ventricular systolic function. *J Echocardiogr*. 2019 Mar;17(1):10–6.
54. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2015 Jan;28(1):1-39.e14.

55. Kadappu KK, Thomas L. Tissue Doppler Imaging in Echocardiography: Value and Limitations. *Heart Lung Circ.* 2015 Mar;24(3):224–33.
56. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2010 Jul;23(7):685–713; quiz 786–8.
57. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2015 Jan;28(1):1-39.e14.
58. Valantine HA, Appleton CP, Hatle LK, Hunt SA, Billingham ME, Shumway NE, et al. A hemodynamic and Doppler echocardiographic study of ventricular function in long-term cardiac allograft recipients. Etiology and prognosis of restrictive-constrictive physiology. *Circulation.* 1989 Jan;79(1):66–75.
59. Dandel M, Hummel M, Müller J, Wellnhofer E, Meyer R, Solowjowa N, et al. Reliability of tissue Doppler wall motion monitoring after heart transplantation for replacement of invasive routine screenings by optimally timed cardiac biopsies and catheterizations. *Circulation.* 2001 Sep 18;104(12 Suppl 1):I184-91.
60. Puleo JA, Aranda JM, Weston MW, Cintrón G, French M, Clark L, et al. Noninvasive detection of allograft rejection in heart transplant recipients by use of Doppler tissue imaging. *J Heart Lung Transplant.* 1998 Feb;17(2):176–84.
61. Stengel SM, Allemann Y, Zimmerli M, Lipp E, Kucher N, Mohacsi P, et al. Doppler tissue imaging for assessing left ventricular diastolic dysfunction in heart transplant rejection. *Heart.* 2001 Oct;86(4):432–7.
62. Blessberger H, Binder T. Two dimensional speckle tracking echocardiography: basic principles. *Heart.* 2010 May 1;96(9):716–22.
63. Teske AJ, De Boeck BWL, Melman PG, Sieswerda GT, Doevendans PA, Cramer MJM. Echocardiographic quantification of myocardial function using tissue deformation imaging, a guide to image acquisition and analysis using tissue Doppler and speckle tracking. *Cardiovasc Ultrasound.* 2007 Aug 30;5:27.
64. Trivedi SJ, Altman M, Stanton T, Thomas L. Echocardiographic Strain in Clinical Practice. *Heart Lung Circ.* 2019 Sep;28(9):1320–30.

65. Jashari H, Rydberg A, Ibrahim P, Bajraktari G, Kryeziu L, Jashari F, et al. Normal ranges of left ventricular strain in children: a meta-analysis. *Cardiovasc Ultrasound*. 2015 Dec 7;13(1):37.
66. Wang TKM, Grimm RA, Rodriguez LL, Collier P, Griffin BP, Popović ZB. Defining the reference range for right ventricular systolic strain by echocardiography in healthy subjects: A meta-analysis. *PLoS One*. 2021 Aug 20;16(8):e0256547.
67. Marzlin N, Hays AG, Peters M, Kaminski A, Roemer S, O’Leary P, et al. Myocardial Work in Echocardiography. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2023 Feb;16(2).
68. Boe E, Skulstad H, Smiseth OA. Myocardial work by echocardiography: a novel method ready for clinical testing. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2019 Jan 1;20(1):18–20.
69. Papadopoulos K, Özden Tok Ö, Mitrousi K, Ikonomidis I. Myocardial Work: Methodology and Clinical Applications. *Diagnostics*. 2021 Mar 22;11(3):573.
70. Sabatino J, Leo I, Strangio A, Bella S La, Borrelli N, Avesani M, et al. Echocardiographic Normal Reference Ranges for Non-invasive Myocardial Work Parameters in Pediatric Age: Results From an International Multi-Center Study. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Apr 25;9.
71. Manganaro R, Marchetta S, Dulgheru R, Ilardi F, Sugimoto T, Robinet S, et al. Echocardiographic reference ranges for normal non-invasive myocardial work indices: results from the EACVI NORRE study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2019 May 1;20(5):582–90.
72. Pham TTM, Truong VT, Vu PN, Tran TX, Nguyen NNH, Nguyen LPT, et al. Echocardiographic Reference Ranges of Non-invasive Myocardial Work Indices in Children. *Pediatr Cardiol*. 2022 Jan;43(1):82–91.
73. Ambardekar A V, Alluri N, Patel AC, Lindenfeld J, Dorosz JL. Myocardial strain and strain rate from speckle-tracking echocardiography are unable to differentiate asymptomatic biopsy-proven cellular rejection in the first year after cardiac transplantation. *J Am Soc Echocardiogr*. 2015 Apr;28(4):478–85.
74. Marciniak A, Eroglu E, Marciniak M, Sirbu C, Herbots L, Droogne W, et al. The potential clinical role of ultrasonic strain and strain rate imaging in diagnosing acute rejection after heart transplantation. *Eur J Echocardiogr*. 2007 Jun;8(3):213–21.
75. Kato TS, Oda N, Hashimura K, Hashimoto S, Nakatani T, Ueda HI, et al. Strain rate imaging would predict sub-clinical acute rejection in heart transplant recipients. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010 May;37(5):1104–10.
76. Elkaryoni A, Altibi AM, Khan MS, Okasha O, Ellakany K, Hassan A, et al. Global longitudinal strain assessment of the left ventricle by speckle tracking

- echocardiography detects acute cellular rejection in orthotopic heart transplant recipients: A systematic review and meta-analysis. *Echocardiography*. 2020 Feb 22;37(2):302–9.
77. Zhu S, Li M, Tian F, Wang S, Li Y, Yin P, et al. Diagnostic value of myocardial strain using two-dimensional speckle-tracking echocardiography in acute cardiac allograft rejection: A systematic review and meta-analysis. *Echocardiography*. 2020 Apr 22;37(4):561–9.
 78. da Costa RCPL, Rodrigues ACT, Vieira MLC, Fischer CH, Monaco CG, Filho EBL, et al. Evaluation of the myocardial deformation in the diagnosis of rejection after heart transplantation. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:991016.
 79. Bacich D, Tessari C, Ciccarelli G, Lucertini G, Cerutti A, Pradegan N, et al. A Comprehensive Excursus of the Roles of Echocardiography in Heart Transplantation Follow-Up. *J Clin Med*. 2024 May 29;13(11):3205.
 80. Otto MEB, Martins AMA, Campos Dall’Orto A de OM, Leite SF, de Queiroz Mauricio Filho MAF, Martins NT, et al. Acute Cellular Rejection in Heart Transplant Patients: Insights of Global Longitudinal Strain, Myocardial Work, and an Exclusive Group of Chagas Disease. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Apr 27;9.
 81. Sciaccaluga C, Mandoli GE, Sisti N, Natali MB, Ibrahim A, Menci D, et al. Detection of cardiac allograft vasculopathy by multi-layer left ventricular longitudinal strain in heart transplant recipients. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2021 May 13;37(5):1621–8.
 82. Clemmensen TS, Løgstrup BB, Eiskjær H, Poulsen SH. Evaluation of longitudinal myocardial deformation by 2-dimensional speckle-tracking echocardiography in heart transplant recipients: Relation to coronary allograft vasculopathy. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2015 Feb;34(2):195–203.
 83. Pradhan S, Mullikin A, Zang H, Ollberding NJ, Stark S, Hill GD, et al. Decreased Global Myocardial Work Efficiency Correlates with Coronary Vasculopathy in Pediatric Heart Transplant Patients. *Pediatr Cardiol*. 2022 Mar 15;43(3):515–24.
 84. Cacioli G, Ciabatti M, Cristiano E, Notari C, Papisca I, Distefano G, et al. Myocardial Work by Speckle-Tracking Echocardiography in Heart Transplant Recipients: Association Between Global Work Efficiency and Coronary Allograft Vasculopathy. *Am J Cardiol*. 2024 Oct;228:1–9.
 85. Bhimani SA, Hsich E, Boyle G, Liu W, Worley S, Bostdorff H, et al. Sex disparities in the current era of pediatric heart transplantation in the United States. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2022 Mar;41(3):391–9.

86. Levy PT, Machefsky A, Sanchez AA, Patel MD, Rogal S, Fowler S, et al. Reference Ranges of Left Ventricular Strain Measures by Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2016 Mar;29(3):209-225.e6.
87. Sabatino J, Leo I, Strangio A, Bella S La, Borrelli N, Avesani M, et al. Echocardiographic Normal Reference Ranges for Non-invasive Myocardial Work Parameters in Pediatric Age: Results From an International Multi-Center Study. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Apr 25;9.