

Relazione del progetto:

“Correlazione dei livelli ematici di Galectina-3, nuovo biomarcatore di scompenso cardiaco, e presenza di fibrosi miocardica in pazienti affetti da cardiopatia ipertrofica”

Introduzione e scopo dello studio

La cardiomiopatia ipertrofica è una malattia cardiaca genetica eterogenea ed è riconosciuta essere un'importante causa di morte improvvisa per aritmia, insufficienza cardiaca e fibrillazione atriale con ictus embolico. Galectina-3 sembra essere particolarmente coinvolta nel processo di fibrosi. Fibrosi e formazione cicatriziale sono processi cruciali nel rimodellamento cardiaco disadattativo.

Lo scopo dello studio è stato quello di correlare i livelli di galectina-3 e NT-proBNP con i valori di Late Gadolinium Enhancement ottenuti mediante risonanza magnetica, test molto sensibile e specifico che permette di avere una misura oggettiva (non operatore dipendente) degli spessori di parete e di valutare la fibrosi cardiaca tramite la somministrazione di mezzo di contrasto (gadolinio), in un gruppo di pazienti affetti da cardiomiopatia ipertrofica.

I pazienti sono stati attentamente reclutati dall'ambulatorio della cardiomiopatia ipertrofica dell'Ospedale Mauriziano Umberto I di Torino.

E' stato determinato il valore di galectina-3 anche per soggetti sani e pazienti affetti da insufficienza renale di diverso stadio afferenti al Laboratorio Analisi. Inoltre, per tutte le tipologie di pazienti e soggetti studiati è stato determinato il tasso di filtrazione glomerulare (eGFR) per verificare il tipo di relazione esistente fra i livelli di galectina-3 ed eGFR.

Lo studio ha avuto l'approvazione da parte del Comitato Etico e tutti i pazienti arruolati hanno dato il loro consenso informato scritto per la propria partecipazione.

L'età media dei pazienti afferenti all'ambulatorio della cardiomiopatia ipertrofica è di circa 50 anni, la diagnosi di cardiomiopatia ipertrofica è spesso accidentale, la diagnosi o il sospetto insorgono durante lo studio o la prevenzione di altre malattie (programmazione di interventi chirurgici, visite di medicina del lavoro, visite di medicina dello sport, etc.), in altri casi si procede alla diagnosi dopo una morte improvvisa di un familiare.

Indipendentemente dalle caratteristiche del percorso diagnostico è obbligatorio compiere la valutazione cardiologica (ECG ed ecografia trans toracica) dei familiari di primo grado in quanto la

cardiomiopatia ipertrofica è una malattia autosomica dominante ed ha quindi il 50% di rischio di trasmissione alla progenie.

Proprio a causa dell'ereditarietà della malattia, accedono all'ambulatorio più generazioni della stessa famiglia, questo permette di avere un'età media dei pazienti relativamente bassa, poter inquadrare in maniera precoce i casi presenti nelle nuove generazioni e attuare la prevenzione primaria della morte improvvisa cardiaca.

Materiali e metodi

A ciascun paziente è stato eseguito il prelievo di una provetta con eparinato di litio. Le aliquote di plasma sono state conservate a -20 °C fino al momento del dosaggio.

I dosaggi di laboratorio per i test di Gal-3 e NT-proBNP sono stati eseguiti su strumentazione mini VIDAS® Biomérieux, strumentazione di semplice utilizzo e impiegata in routine presso il settore Urgenze del Laboratorio Analisi. I test impiegati sono stati VIDAS® Galectin-3 e VIDAS® NT-proBNP2 utilizzando campioni di plasma litio eparinato. Per entrambi i test il principio del dosaggio associa un metodo immunoenzimatico sandwich one-step ad una rivelazione finale in fluorescenza (Enzyme-Linked Fluorescent Assay, ELFA).

Per ciascun paziente è stato eseguito il dosaggio della creatinina sierica e la valutazione del tasso di filtrazione glomerulare è stato ottenuto utilizzando l'equazione Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI), che permette di avere maggiore sensibilità e specificità per valori di eGFR inferiori a 60 mL/min/1.73 m², rispetto all'equazione Modification of Diet in Renal Disease (MDRD).

Le elaborazioni statistiche sono state eseguite mediante l'uso dei software statistici Analyse-it+Clinical Laboratory 1.61 e MedCalc versione 12.0. Il confronto delle variabili continue tra i tre gruppi di soggetti studiati è stato realizzato utilizzando il test t di Student. Per valutare la relazione fra i parametri è stato usato il coefficiente di correlazione di Pearson. I risultati sono stati presentati come numero, percentuale e mediana (minimo-massimo). Valori di $p < 0,05$ sono considerati significativi.

Risultati

Tra novembre 2013 e marzo 2014 sono stati arruolati nello studio 34 pazienti seguiti nell'ambulatorio specifico della cardiomiopatia ipertrofica (CMI) dell'ospedale Mauriziano Umberto I di Torino.

La popolazione presa in esame è composta da 22 uomini (65%) e da 12 donne (35%), la mediana dell'età dei pazienti al tempo del prelievo è di 53 anni e in totale l'età dei pazienti arruolati va da un minimo di 15 a un massimo di 95 anni.

13 pazienti (38%) non hanno alcuna limitazione dell'attività fisica (NYHA I), 19 pazienti (56%) soffrono di sintomi lievi con moderata limitazione dell'attività fisica (NYHA II) e i 2 pazienti (6%) presentano affaticabilità e dispnea per sforzi lievi (NYHA III), nessun paziente invece è sintomatico anche a riposo (NYHA IV).

Nella popolazione arruolata 12 pazienti (35%) presentano la forma ostruttiva della cardiomiopatia ipertrofica, 3 pazienti (9%) sono affetti dalla forma apicale non ostruttiva, infine 16 pazienti (47%) sono affetti dalla forma non ostruttiva, mentre 3 (9%) pazienti non presentavano cardiomiopatia specifica alla risonanza magnetica.

La mediana dei valori di galectina-3 è stata di 9,8 ng/mL con un intervallo di 4,7-22 ng/mL. La significatività della differenza delle medie di galectina-3 tra la classe NYHA I e II è $p=0.04$. La mediana dei valori di NT-proBNP è stata 530 pg/mL con un intervallo di 25-5532 pg/mL. La significatività delle medie di NT-proBNP tra le classi NYHA I e II è $p=0.02$. La mediana di valori di eGFR è stata di 94 mL/min/1,73m² con un intervallo di 41-136 mL/min/1,73m².

La mediana dei valori delle percentuali di Late Gadolinium Enhancement (LGE) è stata del 5% con un intervallo di 0-36%. Un valore di enhancement del 10% è significativo di cardiopatia ipertrofica.

I risultati di correlazione fra i valori di galectina-3 e NT-proBNP con i valori di LGE sono stati: $r=0,124$ e $p=0,491$ per galectina-3; $r=0,106$ e $p=0,552$ per NT-proBNP; e la correlazione fra galectina-3 e NT-proBNP è stata: $r=0,2191$ e $p=0,2207$.

E' stato valutato il tipo di relazione esistente tra i valori di galectina-3 e i valori di eGFR sia in un gruppo di pazienti 30 pazienti con eGFR normale, sia in un gruppo di 29 pazienti con insufficienza renale cronica stadi 3-5 (IRC).

I valori ematici di galectina-3 dei pazienti con CMI sono stati messi in relazione con i rispettivi valori di eGFR.

La mediana e l'intervallo dei valori di galectina-3 nei pazienti IRC (31,8 e 7,6-81,4 ng/mL) si sono dimostrati più alti rispetto al gruppo con eGFR normale (9,9 e 6,8-13,1 ng/mL) o al gruppo dei pazienti con CMI (9,8 e 4,7-22 ng/mL). La significatività delle medie di galectina-3 fra i soggetti normali e gli IRC è $p < 0,0001$. E' stata evidenziata l'esistenza di una relazione inversa curvilinea fra galectina-3 e i valori di eGFR ($p < 0,0001$). Questa relazione era significativa anche per i pazienti con CMI ($p = 0,0014$), dove è stato notato che l'unico valore medio-alto di galectina-3 corrisponde ad un paziente con una lieve insufficienza renale (eGFR di 41 mL/min/1,73m²). Le significatività delle medie dei valori di galectina-3 fra tutti i pazienti con CMI e i soggetti normali e gli IRC sono state rispettivamente $p = 0,14$ e $p < 0,0001$.

La mediana e l'intervallo dei valori di NT-proBNP nei soggetti normali e IRC sono stati rispettivamente: 52 e 15-384 pg/mL, 2222 e 16-25000 pg/mL.

Le significatività delle medie dei valori di NT-proBNP fra i pazienti con CMI e i soggetti normali e gli IRC sono state rispettivamente di $p = 0,0008$ e $p = 0,001$. Mentre la significatività dei valori di NT-proBNP fra i soggetti normali ed IRC è stata $p = 0,0004$.

La mediana dei valori dello spessore cardiaco massimo nell'ecocardiografia è di 18 mm con un intervallo che va da 10 a 31.5 mm.

La fibrillazione atriale è una complicanza relativamente frequente e nella popolazione coinvolta nello studio 6 pazienti (18%) hanno avuto almeno un episodio di FA (parossistica o cronica).

I pazienti sono stati stratificati per il rischio di morte improvvisa analizzando la presenza o meno dei fattori di rischio maggiori:

27 pazienti (79%) non presentano nessun fattore di rischio, 6 pazienti (18%) presentano un fattore di rischio, 1 paziente (3%) ha due fattori di rischio. Quindi il 97% dei pazienti dello studio ha una bassa probabilità di incorrere nella morte improvvisa cardiaca cioè è a "basso rischio" mentre il 3% ha un rischio intermedio di morte improvvisa.

Il fattore di rischio cardiovascolare più rappresentato nella popolazione presa in esame è l'eccesso di peso corporeo, calcolando l'indice di massa corporea (BMI) 19 pazienti (56%) risultano essere in sovrappeso o obesi, considerando come valore soglia BMI= 25,0 Kg/m².

L'ipertensione presente in 7 pazienti (21%) risulta essere trattata farmacologicamente.

Il diabete mellito è presente in 2 pazienti (6%); la patologia coronarica ischemica affligge 3 pazienti (9%).

Discussione e conclusioni

Nello studio effettuato sono presenti pochi pazienti fortemente sintomatici e/o scompensati (NYHA III - IV) perché durante la fase di arruolamento non presenti; le classi III e IV sono più frequenti in donne anziane con forma ostruttiva e la relativa bassa età dei pazienti e la maggiore percentuale di uomini può esserne una spiegazione.

I valori di galectina-3 misurati nei pazienti con CMI pur presentando mediane diverse fra le classi NYHA I e II, hanno intervalli fortemente sovrapponibili. I valori di NT-proBNP dei pazienti invece mostrano sia mediane che intervalli di distribuzione dei valori diversi fra le due classi NYHA I e II. La significatività delle differenze fra le medie fra le classi NYHA I e II sia per galectina-3 che per NT-proBNP confermano questi risultati ($p=0,04$ per galectina-3 e $p=0,02$ per NT-proBNP).

Purtroppo i nostri risultati non evidenziano correlazioni tra i valori di galectina-3 e NT-proBNP con i valori di LGE ($r=0,124$ e $p=0,491$ per galectina-3; $r=0,106$ e $p=0,552$ per NT-proBNP). La correlazione fra galectina-3 e NT-proBNP allo stesso modo non ha significatività ($r=0,2191$ e $p=0,2207$).

Nel complesso non esiste differenza significativa dei valori misurati di galectina-3 fra i soggetti sani e i pazienti con CMI ($p=0,14$), mentre è significativa la differenza fra i valori di galectina-3 dei pazienti con CMI e gli IRC ($p<0,0001$) al pari dei normali rispetto agli IRC ($p<0,0001$).

Sono invece significative le differenze dei valori di NT-proBNP fra i diversi gruppi studiati ($p=0,0008$ CMI vs normali; $p=0,001$ CMI vs IRC).

Valutando il tipo di relazione esistente fra i valori di galectina-3 ed eGFR dei soggetti normali sommati a quelli con IRC si è verificata una relazione non lineare significativa ($p<0,0001$) confermata anche per i pazienti con CMI ($p=0,0014$).

Questo permette di pensare che l'insufficienza renale rispetto all'insufficienza cardiaca (conseguenza comune della CMI), potrebbe essere il maggiore responsabile dei valori medio-alti di galectina-3 nei pazienti con patologia cardiaca.

Infine, nei nostri risultati i pazienti con CMI non avevano valori elevati di galectina-3 (perché pazienti asintomatici, di classe NYHA II e compensati) ma qualora in pazienti con insufficienza cardiaca più severa si avessero valori di galectina-3 incrementati, questi potrebbero anche riflettere la produzione da parte di altri organi, oltre al cuore e al rene, soprattutto nei processi infiammatori sistemici che possono verificarsi sia nei pazienti con insufficienza renale sia in pazienti con insufficienza cardiaca.

La forte limitazione di questo studio riguarda l'arruolamento di pazienti quasi esclusivamente appartenenti alle classi NYHA I e II, per cui forse è ancora precoce annunciare il basso valore prognostico della galectina-3 nei pazienti con CMI, sulla base degli attuali risultati.

Ulteriori studi mirati a fornire ulteriori dettagli per l'uso della galectina-3 nello scompenso cardiaco possono contribuire a determinare un nuovo capitolo nella comprensione della fisiopatologia dell'insufficienza cardiaca.

Torino, 15/05/14

AZIENDA OSPEDALIERA
ORDINE MAURIZIANO DI TORINO
S.C. CARDIOLOGIA
DIRETTORE
Dr.ssa Maria Rosa CONTE

Firma
A.O. ORDINE MAURIZIANO DI TORINO
S.C. Laboratorio Analisi
Direttore: Dr. Marco Migliardi

Luca Gore

Relazione del progetto:

“Correlazione dei livelli ematici di Galectina-3, nuovo biomarcatore di scompenso cardiaco, e presenza di fibrosi miocardica in pazienti affetti da cardiopatia ipertrofica”

Introduzione e scopo dello studio

La cardiomiopatia ipertrofica è definita come una malattia autosomica dominante del muscolo cardiaco caratterizzata da una cavità ventricolare di piccole dimensioni ed una marcata ipertrofia con disarmonia delle miofibrille. E' la principale causa di morte improvvisa nei giovani e può evolvere verso lo scompenso cardiaco. Galectina-3 è un biomarkers che ha dimostrato essere coinvolta nel mediare il processo di fibrosi in molti organi compreso il cuore concorrendo al rimodellamento cardiaco.

Lo scopo dello studio era di correlare, in una cohorte di PP.affetti da CMI, i livelli di galectina-3 e NT-proBNP consecutivi con i valori di Late Gadolinium Enhancement alla risonanza magnetica, indicatore di fibrosi miocardica.

I pazienti che erano stati sottoposti a RMN sono stati arruolati dall'ambulatorio della cardiomiopatia ipertrofica dell'Ospedale Mauriziano Umberto I di Torino in modo consecutivo.

Inoltre il livelli di Galectina 3 sono stati confrontati con i livelli di nt pro BNP indicatore di scompenso cardiaco.

Materiali e metodi

I pazienti sono stati seguiti con ECG , ecocardiogramma e visita dai cardiologi di questo ospedale

Per ciascun paziente sono stati dosati i livelli di Gal-3 , NT-pro BNP e la creatinina sierica con la valutazione del tasso di filtrazione glomerulare .

La classificazione dello scompenso cardiaco secondo le linee guida ESC è stata suddivisa in classi NYHA.

Risultati

Tra settembre 2013 e marzo 2014 sono stati arruolati nello studio 34 pazienti seguiti nell'ambulatorio specifico della cardiomiopatia ipertrofica (CMI) dell'ospedale Mauriziano Umberto I di Torino.

La popolazione studia era composta da 22 uomini (65%) e da 12 donne (35%), con età media di 53 anni .

13 pazienti (38%) sono risultati essere in classe NYHA I, 19 pazienti in classe NYHA II e 2 pazienti (6%) in classe NYHA III, nessun paziente in classe NYHA IV.

Nella popolazione arruolata 12 pazienti (35%) presentano la forma ostruttiva della cardiomiopatia ipertrofica, 3 pazienti (9%) sono affetti dalla forma apicale non ostruttiva, infine 16 pazienti (47%) sono affetti dalla forma non ostruttiva, mentre 3 (9%) pazienti non presentavano cardiomiopatia specifica alla risonanza magnetica.

La mediana dei valori di galectina-3 è stata di 9,8 ng/mL con un intervallo di 4,7-22 ng/mL. La significatività della differenza delle medie di galectina-3 tra la classe NYHA I e II è $p=0.04$. La mediana dei valori di NT-proBNP è stata 530 pg/mL con un intervallo di 25-5532 pg/mL. La significatività delle medie di NT-proBNP tra le classi NYHA I e II è $p=0.02$. La mediana di valori di eGFR è stata di 94 mL/min/1,73m² con un intervallo di 41-136 mL/min/1,73m².

La mediana dei valori delle percentuali di Late Gadolinium Enhancement (LGE) è stata del 5% con un intervallo di 0-36%. Un valore di enhancement del 10% è significativo di cardiopatia ipertrofica.

I risultati di correlazione fra i valori di galectina-3 e NT-proBNP con i valori di LGE sono stati: $r=0,124$ e $p=0,491$ per galectina-3; $r=0,106$ e $p=0,552$ per NT-proBNP; e la correlazione fra galectina-3 e NT-proBNP è stata: $r=0,2191$ e $p=0,2207$.

E' stato valutato il tipo di relazione esistente tra i valori di galectina-3 e i valori di eGFR sia in un gruppo di 30 pazienti con eGFR normale, sia in un gruppo di 29 pazienti con insufficienza renale cronica stadi 3-5 (IRC).

I valori ematici di galectina-3 dei pazienti con CMI sono stati messi in relazione con i rispettivi valori di eGFR.

La mediana e l'intervallo dei valori di galectina-3 nei pazienti IRC (31,8 e 7,6-81,4 ng/mL) si sono dimostrati più alti rispetto al gruppo con eGFR normale (9,9 e 6,8-13,1 ng/mL) o al gruppo dei pazienti con CMI (9,8 e 4,7-22 ng/mL). La significatività delle medie di galectina-3 fra i soggetti normali e gli IRC è $p<0,0001$. E' stata evidenziata l'esistenza di una relazione inversa curvilinea fra galectina-3 e i valori di eGFR ($p<0,0001$). Questa relazione era significativa anche per i pazienti con CMI ($p=0,0014$), dove è stato notato che l'unico valore medio-alto di galectina-3 corrisponde

ad un paziente con una lieve insufficienza renale (eGFR di 41 mL/min/1,73m²). Le significatività delle medie dei valori di galectina-3 fra tutti i pazienti con CMI e i soggetti normali e gli IRC sono state rispettivamente p=0,14 e p<0.0001.

La mediana e l'intervallo dei valori di NT-proBNP nei soggetti normali e IRC sono stati rispettivamente: 52 e 15-384 pg/mL, 2222 e 16-25000 pg/mL.

Le significatività delle medie dei valori di NT-proBNP fra i pazienti con CMI e i soggetti normali e gli IRC sono state rispettivamente di p=0,0008 e p=0,001. Mentre la significatività dei valori di NT-proBNP fra i soggetti normali ed IRC è stata p=0,0004.

La mediana dei valori dello spessore cardiaco massimo nell'ecocardiografia è di 18 mm con un intervallo che va da 10 a 31.5 mm.

La fibrillazione atriale è una complicanza relativamente frequente e nella popolazione coinvolta nello studio 6 pazienti (18%) hanno avuto almeno un episodio di FA (parossistica o cronica).

I pazienti sono stati stratificati per il rischio di morte improvvisa analizzando la presenza o meno dei fattori di rischio maggiori:

27 pazienti (79%) non presentano nessun fattore di rischio, 6 pazienti (18%) presentano un fattore di rischio, 1 paziente (3%) ha due fattori di rischio. Quindi il 97% dei pazienti dello studio ha una bassa probabilità di incorrere nella morte improvvisa cardiaca cioè è a "basso rischio" mentre il 3% ha un rischio intermedio di morte improvvisa.

Il fattore di rischio cardiovascolare più rappresentato nella popolazione presa in esame è l'eccesso di peso corporeo, calcolando l'indice di massa corporea (BMI) 19 pazienti (56%) risultano essere in sovrappeso o obesi, considerando come valore soglia BMI= 25,0 Kg/m².

L'ipertensione presente in 7 pazienti (21%) risulta essere trattata farmacologicamente.

Il diabete mellito è presente in 2 pazienti (6%); la patologia coronarica ischemica affligge 3 pazienti (9%).

Discussione e conclusioni

Nello studio effettuato sono presenti pochi pazienti fortemente sintomatici e/o scompensati (NYHA III - IV) perché durante la fase di arruolamento non presenti; le classi III e IV sono più frequenti in donne anziane con forma ostruttiva e la relativa bassa età dei pazienti e la maggiore percentuale di uomini può esserne una spiegazione.

NTproBNP è un biomarkes validato sia per la diagnosi scompenso acuto che per la stratificazione nello scompenso cronico. Dalla letteratura emerge che la Gal 3 è un fattore di rischio indipendente da età, sesso, diabete mellito, FE, funzione renale, terapia antiscompenso e biomarker quali NT pro BNP. (trial CORONA-COACH) ed avere un valore predittivo indipendente di eventi avversi nello scompenso cardiaco. Ulteriori studi hanno dimostrato che la G3 è un marker prognostico indipendente in tutte e due le condizioni, particolarmente utile nei pazienti con FE conservata.

I valori di galectina-3 misurati nei pazienti con CMI pur presentando mediane diverse fra le classi NYHA I e II, hanno intervalli fortemente sovrapponibili. I valori di NT-proBNP dei pazienti invece mostrano sia mediane che intervalli di distribuzione dei valori diversi fra le due classi NYHA I e II. La significatività delle differenze fra le medie fra le classi NYHA I e II sia per galectina-3 che per NT-proBNP confermano questi risultati ($p=0,04$ per galectina-3 e $p=0,02$ per NT-proBNP).

Purtroppo i nostri risultati non evidenziano correlazioni tra i valori di galectina-3 e NT-proBNP con i valori di LGE ($r=0,124$ e $p=0,491$ per galectina-3; $r=0,106$ e $p=0,552$ per NT-proBNP). La correlazione fra galectina-3 e NT-proBNP allo stesso modo non ha significatività ($r=0,2191$ e $p=0,2207$).

Nel complesso non esiste differenza significativa dei valori misurati di galectina-3 fra i soggetti sani e i pazienti con CMI ($p=0,14$), mentre è significativa la differenza fra i valori di galectina-3 dei pazienti con CMI e gli IRC ($p<0,0001$) al pari dei normali rispetto agli IRC ($p<0,0001$).

Sono invece significative le differenze dei valori di NT-proBNP fra i diversi gruppi studiati ($p=0,0008$ CMI vs normali; $p=0,001$ CMI vs IRC). Questo è stato dimostrato anche dallo studio HF action dove i due marcatori sembrano fornire informazioni complementari ma ad una analisi multivariata la Gal 3 perde il suo valore predittivo.

Valutando il tipo di relazione esistente fra i valori di galectina-3 ed eGFR dei soggetti normali sommati a quelli con IRC si è verificata una relazione non lineare significativa ($p<0,0001$) confermata anche per i pazienti con CMI ($p=0,0014$).

Questo permette di pensare che l'insufficienza renale rispetto all'insufficienza cardiaca (conseguenza comune cella CMI), potrebbe essere il maggiore responsabile dei valori medio-alti di galectina-3 nei pazienti con patologia cardiaca.

Infine, nei nostri risultati i pazienti con CMI non avevano valori elevati di galectina-3 (perché pazienti asintomatici, di classe NYHA II e compensati) ma qualora in pazienti con insufficienza cardiaca più severa si avessero valori di galectina-3 incrementati, questi potrebbero anche riflettere la produzione da parte di altri organi, oltre al cuore e al rene, soprattutto nei processi infiammatori

sistemici che possono verificarsi sia nei pazienti con insufficienza renale sia in pazienti con insufficienza cardiaca.

Il limite di questo studio riguarda l'arruolamento di pazienti che si presentavano quasi esclusivamente appartenenti alle classi NYHA I; II.

Ulteriori studi serviranno a stabilire il ruolo della galectina-3 nello scompenso cardiaco che rimane al momento ancora da determinare.

Torino, 14/07/14

Firma

Handwritten signature in cursive script, appearing to read "E. Rebuffo".Handwritten signature in cursive script, appearing to read "M. De Fe".