



UNIVERSITÀ DI PISA

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Scuola di Specializzazione in Malattie dell'Apparato Cardiovascolare

## **Tesi di Laurea Specialistica**

*“Stenosi Valvolare Aortica severa e funzione miocardica:  
utilità diagnostica della valutazione Speckle Tracking”*

### **Candidato**

Dr. Iacopo Fabiani

### **Relatore**

Chiar.mo Prof. Mario Marzilli

### **Correlatore**

Prof. Vitantonio Di Bello

Anno Accademico 2012 - 2013

# INDICE

• <b>Riassunto</b>	<b>4</b>
• <b>Acronimi</b>	<b>7</b>
• <b>1-Introduzione</b>	<b>10</b>
○ 1A.Fisiopatologia della Stenosi Aortica	15
○ 1B.Fibrosi Miocardica e valutazione non Invasiva della Fibrosi	17
○ 1C.Ecocardiografia nella Stenosi Aortica	24
○ 1D.Valutazione della Funzione Sistolica nella Stenosi Aortica	27
○ 1E.Speckle Tracking Imaging	29
• <b>2-MATERIALI E METODI</b>	<b>32</b>
○ 2A.Scopo dello Studio	32
○ 2B.Caratteristiche della popolazione di studio	32
○ 2C.Ecocardiografia convenzionale	35
○ 2D.Speckle Tracking	37
▪ 2Da.Speckle Tracking settale	39
○ 2E.Cateterismo cardiaco	39
○ 2F.Procedura bioptica settale	40
○ 2G.Procedura di analisi tissutale	40
○ 2H.Dosaggio del miRNA21	41
▪ Raccolta dei campioni ematici	41
▪ Estrazione dei miRNA ed analisi dell'espressione	41
○ 2I.Analisi Statistica	41
• <b>3-RISULTATI</b>	<b>43</b>
○ miRNA21	49
○ Confronto Speckle Tracking-tessuto	50
• <b>4-DISCUSSIONE</b>	<b>55</b>
○ Limitazioni delle metodiche impiegate nello studio della funzione sistolica nella stenosi aortica.	55
○ Analisi tissutale, ruolo diagnostico e potenziale impiego dello Speckle Tracking	57

○ miRNA21 estenosi aortica severa	62
• <b>5-LIMITAZIONI</b>	<b>63</b>
• <b>6-CONCLUSIONI</b>	<b>65</b>
• <b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>67</b>
• <b>RINGRAZIAMENTI</b>	<b>76</b>

## **RIASSUNTO**

*La stenosi valvolare aortica degenerativa rappresenta la più comune valvulopatia nativa nei paesi occidentali e la prima per cui vengano oggi poste indicazioni ad intervento.*

*La progressione dalle forme di ostruzione lieve a severa è spesso graduale e si accompagna al lento instaurarsi di alterazioni fisiopatologiche a livello ventricolare sinistro dovute al sovraccarico pressorio, quali ipertrofia concentrica e progressiva fibrosi tissutale. Sono implicati in questo processo tanto trigger meccanici che fattori genetici.*

*In particolare, la fibrosi sostitutiva contribuisce a determinare l'insorgere di disfunzione diastolica ed al progressivo scadimento dell'inotropismo e, complessivamente, è un correlato di malattia più avanzata.*

*Attualmente, le indicazioni di classe I-A ad intervento di sostituzione valvolare sono poste all'insorgere di sintomi tipici, in presenza di stenosi valvolare di severa entità. Altrimenti, al manifestarsi di una riduzione della frazione di eiezione ( $FE < 50\%$ ).*

*Tuttavia, entrambi questi approcci possono essere inappropriati, poiché la comparsa di sintomi e la riduzione della frazione di eiezione si associano ad alterazioni della contrattilità e del tessuto miocardico a volte non reversibili dopo intervento. Molti dei parametri emodinamici di severità della valvulopatia hanno inoltre dimostrato di avere una spiccata flusso dipendenza ed una limitata correlazione tanto con il grado di ipertrofia miocardica che con la sintomatologia clinica dei pazienti.*

*La frazione di eiezione è un indicatore poco sensibile delle alterazioni precoci della contrattilità e della funzione longitudinale. Quest'ultima, infatti, viene ad essere compromessa per prima nel processo di rimodellamento che interessa i pazienti con stenosi aortica, mentre si assiste ad un temporaneo compenso radiale dovuto all'ipertrofia parietale.*

*Le moderne metodiche di imaging ecocardiografico consentono oggi una valutazione più accurata della meccanica cardiaca. In particolare, lo Speckle tracking imaging (STI) permette di stimare in maniera rapida, non invasiva e riproducibile, multi - direzionale ed angolo-indipendente, la deformazione miocardica e le alterazioni tissutali che caratterizzano questi pazienti sin dalle fasi precoci. In precedenti studi, gli indici di deformazione miocardica, in particolare il Global Longitudinal Strain*

*(GLS), hanno dimostrato di possedere un rilevante potere diagnostico e prognostico, permettendo una migliore stratificazione dei pazienti. Inoltre, nuovi marcatori bioumorali, implicati nel processo fisiopatologico di sovraccarico pressorio e fibrosi tissutale alla base della stenosi aortica, come i microRNA (miRNA), possono avere un ruolo aggiuntivo nella stratificazione dei pazienti.*

*Nel presente studio, 36 pazienti affetti da stenosi valvolare aortica severa sintomatica e frazione di eiezione preservata ( $FE >50\%$ ), sono stati sottoposti a valutazione clinica (visita, ECG, score di rischio cardiocirurgico), ecocardiografica (includente tissue Doppler imaging, TDI e speckle tracking imaging, STI) e laboratoristica (BNP, Tn-hs, miRNA21).*

*In particolare è stata effettuata una valutazione del global longitudinal strain (GLS) e del global longitudinal strain rate sistolico (GLSrS) e proto-diastolico (GLSrE).*

*Sono state successivamente eseguite ripetute valutazioni della deformazione miocardica a livello del setto basale, al fine di ottenere valori segmentari di strain (SLs), strain rate sistolico (SrSs) e strain rate proto-diastolico (SrEs) longitudinali.*

*28 di questi soggetti sono stati sottoposti ad intervento di sostituzione valvolare aortica chirurgica e 15 a concomitante biopsia del setto interventricolare basale. Sui campioni di tessuto è stata effettuata una stima, dopo sezione e colorazione con Ematossilina/Eosina e Tricromica di Masson, della percentuale di fibrosi tissutale sostitutiva. E' stata inoltre effettuata un'analisi dei livelli di espressione di miRNA21 plasmatico in 31 dei pazienti.*

*Lo studio ecocardiografico ha rilevato, in una popolazione omogenea per frazione di eiezione e caratterizzata da ipertrofia di tipo concentrico, disfunzione diastolica e tendenziale aumento delle pressioni di riempimento, una netta compromissione della funzione longitudinale valutata tramite mitral annular plane systolic excursion (MAPSE), TDI e GLS. Lo studio tissutale (15 pazienti) ha inoltre individuato una correlazione inversa tra GLS, strain rate settale sistolico (SrSs) e proto-diastolico (SrEs) e % di fibrosi tissutale, che è risultata un determinante indipendente di tutti gli indici di deformazione miocardica. Inoltre i parametri di deformazione miocardica e la fibrosi tissutale hanno dimostrato di possedere, a differenza degli altri indici di funzione sistolica, una capacità di discriminare accuratamente pazienti con classe funzionale avanzata e di correlare con i valori di peptide natriuretico*

*cerebrale (BNP). I valori plasmatici di miRNA21 hanno evidenziato una buona correlazione con quelli della massa ventricolare sinistra indicizzata (LVMI) ma non con la fibrosi o gli indici di severità emodinamica della valvulopatia.*

*In conclusione, le alterazioni contrattili e tissutali nei pazienti con stenosi valvolare aortica severa sono già presenti in una fase di relativa stabilità della malattia ed in presenza di frazione di eiezione preservata. L'utilizzo di parametri biomorali e metodiche strumentali più oggettive ed accurate per la valutazione della meccanica cardiaca, in particolare della deformazione miocardica, può consentire un migliore approccio terapeutico al trattamento dei pazienti con stenosi valvolare aortica, permettendo di individuare precocemente, e verosimilmente prevenire, alterazioni ultra-strutturali e deficit contrattili difficilmente reversibili anche dopo l'intervento.*

## LISTA DELLE ABBREVIZIONI (in ordine alfabetico)

- *(i): indicizzato.*
- *(SVA): Stenosi valvolare aortica.*
- *A: Onda di riempimento trans-mitralico telediastolico al Doppler pulsato, cm/sec.*
- *ACE: Angiotensin converting enzyme.*
- *AVA: Area valvolare aortica, cm<sup>2</sup>.*
- *AVAi: Area valvolare aortica indicizzata, cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>.*
- *BNP/Nt-pro-BNP: Brain natriuretic peptide/N-terminal, pg/ng/ml.*
- *BPCO: Broncopneumopatia cronica ostruttiva.*
- *BSA: Body surface area, m<sup>2</sup>.*
- *CMRI: Cardiovascular magnetic resonance imaging.*
- *CO: Cardiac output, l/min.*
- *DT: Deceleration time, msec.*
- *E: Onda di riempimento trans-mitralico protodiastolico al Doppler pulsato, cm/sec.*
- *E/A: Rapporto E/A.*
- *E/E': Rapporto E/onda protodiastolica al TDI anulare mitralico.*
- *E/GLSrE: Rapporto E/GLSrE, cm.*
- *E': Velocità proto-diastolica al TDI anulare mitralico, cm/sec.*
- *EDD/EDDi: End-diastolic diameter/indicizzato, cm-cm/m<sup>2</sup>.*
- *EDV-ESV/i: End-diastolic/systolic volume/indicizzato, ml-ml/m<sup>2</sup>.*
- *ELI: Energy loss index, cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>.*
- *ESD/ESDi: End-systolic diameter/indicizzato, cm-cm/m<sup>2</sup>.*
- *FE: Frazione di eiezione, %.*
- *FS: Fractional shortening, %.*
- *Fps: frames per secondo*
- *G med: Gradiente medio, mmHg.*
- *GLS: Global longitudinal strain, %.*
- *GLSrE: Global longitudinal strain rate proto-diastolico, 1/sec.*
- *GLSrS: Global longitudinal strain rate sistolico, 1/sec.*
- *IBS: Integrated back-scatter.*
- *IRC: Insufficienza renale cronica.*
- *IVS<sub>s/d</sub>: Inter-ventricular septum Sys/diastole, cm.*

- *LAD: Left atrial dimension, cm.*
- *LAV/LAVi: Left atrial volume/indicizzato, ml-ml/m<sup>2</sup>.*
- *LVM: Left ventricular mass, g.*
- *LVMi: Left ventricular mass indicizzata, g/m<sup>2</sup>.*
- *LVOT: Left ventricular outflow tract, cm.*
- *M/V ratio: Mass/volume ratio, g/ml.*
- *MAPSE: Mitral annular plane systolic excursion, cm.*
- *miRNA: microRNA.*
- *MMP: Matrix-metallo-proteinase.*
- *NYHA: New York Heart Association.*
- *PAPs: Pulmonary artery systolic pressure, mmHg.*
- *PCR: Proteina C-reattiva.*
- *PIIIP: Pro-collagene tipo III.*
- *PIP: Pro-collagene tipo I*
- *PW: Doppler pulsato*
- *PWD<sub>s/d</sub>: Posterior wall diameter, cm.*
- *RCP: Reazione a catena della polimerasi.*
- *RNA: Ribonucleic acid.*
- *ROC: Receiver operating characteristic.*
- *ROI: Region of interest.*
- *RWT: Relative wall thickness, cm.*
- *S's/S'l: Velocità sistolica anulare mitralica al TDI, cm/sec.*
- *SD: Standard deviation.*
- *SEAS: Simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis study.*
- *SLs: Strain longitudinale setto, %.*
- *SrSE: Strain rate protodiastolico setto, 1/sec.*
- *SrSs: Strain rate sistolico setto, 1/sec.*
- *STI: Speckle tracking imaging.*
- *STS: Society of Thoracic Surgeons.*
- *SV-VTI/i: Stroke volume VTI/indicizzato, ml-ml/m<sup>2</sup>.*
- *TAC: Tomografia assiale computerizzata.*
- *TAPSE: Tricuspid annular plane systolic excursion, cm.*
- *TAVI: Trans-catheter aortic valve implantation.*
- *TDI: Tissue Doppler imaging.*



- ***TGF-beta: Transforming-growth factor beta.***
- ***TIMP: Tissue inhibitor of metallo-proteinases.***
- ***V max/V med: Velocità massima/media, m/sec.***
- ***V-R: Velocity ratio.***
- ***Z<sub>VA</sub>: Impedenza valvulo-arteriosa, mmHg/ml/m<sup>2</sup>.***

## **1.INTRODUZIONE**

La stenosi valvolare aortica (SVA) calcifico-degenerativa è la valvulopatia nativa più frequente nel mondo occidentale e la prima per cui vengano attualmente poste indicazioni operatorie.(1)

L'intervento di sostituzione valvolare aortica rappresenta, infatti, circa il 50% di tutte le procedure valvolari eseguite nei paesi sviluppati (2), con un netto incremento nell'impiego di protesi biologiche rispetto alle protesi meccaniche, soprattutto nei pazienti anziani.(3)

La prevalenza di tale vizio valvolare raggiunge il 25% dei soggetti ultra-sessantacinquenni.

Molti di questi pazienti presentano solo un lieve "ispessimento" della valvola (sclerosi aortica) con conservata riserva valvolare, mentre un numero non trascurabile, stimabile tra il 2 ed il 5%, presenta una significativa ostruzione all'efflusso sinistro.(1, 4, 5)

La sclerosi aortica progredisce in stenosi lieve in meno del 15% dei casi, nell'arco di 2-7 anni.(6, 7)

Tuttavia, all'instaurarsi di un grado di stenosi anche lieve, la probabilità che si verifichi una progressione di malattia è frequente, fino al palesarsi di una stenosi severa sintomatica, suscettibile di sostituzione valvolare.(8, 9)

Dato l'inesorabile e progressivo invecchiamento della popolazione, il numero dei pazienti con stenosi valvolare aortica candidati ad intervento è destinato ad aumentare nei prossimi decenni.

Attualmente, la diagnosi si basa sul rilievo obiettivo di un soffio sistolico eiettivo rude, cui fa seguito un riscontro ecocardiografico, in presenza di una clinica talora sfumata. In altri casi, l'evidenza, occasionale, può essere strumentale.

La maggior parte dei pazienti riceve infatti una diagnosi molto prima dell'esordio dei sintomi e viene seguita fino a quando il clinico non pone indicazione ad intervento.

Più rari sono i casi di esordio con sintomi invalidanti (angina, dispnea, scompenso, sincope), che richiedano cioè un intervento terapeutico a breve termine.

La stenosi aortica sintomatica è infatti associata ad un tasso di mortalità approssimato di circa 25% per anno, se non trattata.(10, 11)

Fortunatamente, solo una limitata percentuale di pazienti riceve una diagnosi in condizioni di scompenso e disfunzione ventricolare sinistra conclamata.

La disfunzione ventricolare che si instaura nella fase terminale della patologia si accompagna a sintomi spesso invalidanti, anche se i segni di disfunzione diastolica sono generalmente molto più precoci.

I sintomi si presentano inizialmente durante sforzo (portata cardiaca ridotta e riserva di flusso limitata), e sono dovuti principalmente alle aumentate pressioni di riempimento ventricolare.

Non esiste tuttavia al momento un cut-off strumentale o laboratoristico che indichi con certezza il momento più probabile per la comparsa dei sintomi.

Pertanto occorre una valutazione combinata di clinica, rilievi emodinamici/anatomici e risposta ventricolare.

Attualmente, il marker clinico per eccellenza per porre indicazione a sostituzione valvolare aortica rimane comunque lo sviluppo dei sintomi in presenza di stenosi valvolare severa. Esistono tuttavia indicatori di supporto, utili nella stratificazione di questi pazienti, anche perché la sintomatologia si palesa in una fase “tardiva” di malattia. Distinguere peraltro il reale peso della valvulopatia in soggetti spesso anziani, con numerose comorbidità e limitata mobilità, può risultare complesso, soprattutto se si considera che la maggior parte dei pazienti giunge alla valutazione del clinico lamentando dispnea da sforzo.

Tra i biomarcatori utili nella stratificazione del rischio rientrano osteopontina, proteina C-reattiva (PCR) e peptidi natriuretici (BNP/Nt-pro-BNP).(12, 13)

In particolare, l'utilizzo routinario dei peptidi natriuretici, considerata la loro cardio-specificità, può aiutare a definire lo sviluppo di sintomi, la sopravvivenza dopo intervento, lo stato funzionale e la funzione ventricolare sinistra nel soggetto asintomatico.(14, 15)

Infatti, incrementi annuali di BNP in pazienti con stenosi severa sono significativamente più marcati in coloro che svilupperanno sintomi ed il BNP risulta, nel complesso, un indicatore sensibile, relativamente precoce e specifico di progressione di malattia rispetto ai parametri emodinamici ed ecocardiografici. L'intervento di sostituzione valvolare si associa inoltre a riduzione, oltre che della massa ventricolare, dei valori di BNP.(16)

Recentemente è dunque stato proposto uno score di rischio che incorpori velocità massima trans-valvolare, sesso del paziente e BNP.(17)

Tuttavia, il BNP rimane un indicatore tardivo di mal adattamento nei pazienti con stenosi aortica severa. Focalizzare pertanto l'attenzione su markers precoci di fibrosi tissutale può quindi essere più corretto. Tra questi vanno menzionati il transforming growth factor (TGF) beta, la cardiotrofina-1, le metallo-proteinasi di matrice (Matrix metallo proteinases, MMP) ed i loro inibitori (Tissue inhibitors of metallo-proteinases, TIMP).

Non esistono al momento terapie mediche in grado di limitare la progressione di malattia nei pazienti con stenosi aortica. La farmacoterapia ha tuttavia un ruolo nella gestione delle (frequenti) comorbidità.

Il trattamento del sovraccarico vascolare (ipertensione arteriosa), che ha un importante correlato prognostico (regressione/limitazione ipertrofia), è ad esempio centrale.(18-21)

Occorre infatti valutare la patologia nelle componenti valvolare, vascolare e ventricolare.

La presenza di ipertensione è frequente in questi pazienti (fino al 75% dei soggetti se si considerano coorti di soggetti indirizzati a TAVI) (22) e determina un'ulteriore aggravamento dell'ipertrofia ventricolare.

Il sistema renina-angiotensina-aldosterone risulta infatti iper-stimolato in questi pazienti. La terapia con ACE inibitori o sartanici, più efficaci a livello del tessuto valvolare, non ha dato tuttavia che risultati contraddittori.

Gli ACE inibitori possono tuttavia limitare l'ipertrofia ventricolare e la disfunzione diastolica, dilazionando la comparsa o migliorando i sintomi e la prognosi.(23-25)

Nonostante le alterazioni ed i processi fisiopatologici alla base della calcificazione valvolare ripercorrono da vicino molte delle tappe dell'aterosclerosi, la terapia con statine non ha mostrato di apportare significativo beneficio sul piano clinico né di limitare la progressione della valvulopatia.(26-28)

La comparsa di fibrillazione atriale può peggiorare o slatentizzare la sintomatologia, per cui si rende necessaria una gestione ottimale della frequenza e del ritmo.

Lo scompenso cardiaco, in pazienti con stenosi valvolare aortica, deve essere trattato secondo le attuali linee guida (29), ricordando comunque che la sostituzione

valvolare può apportare un significativo miglioramento clinico in questi pazienti. In casi di scompenso avanzato, anche la terapia medica ha un ruolo limitato, se non palliativo. In questi pazienti, può pertanto avere spazio l'esecuzione di una valvuloplastica aortica.(30)

La presenza di sintomi infatti, come già ricordato, soprattutto se in associazione alla disfunzione ventricolare sinistra, determina una prognosi peggiore.(9, 11, 31)

Benché la sostituzione valvolare trovi in questo contesto ancora indicazione, questa può essere gravata da un significativo rischio di eventi avversi e limitato miglioramento clinico.(32)

Rispetto ai pazienti con frazione di eiezione (FE) preservata, quelli con FE ridotta presentano una mortalità operatoria maggiore, una scarsa prognosi (33, 34) e fino al 50% dei casi non mostrano un recupero funzionale ventricolare sinistro dopo intervento, dimostrando che la riduzione di FE rappresenta uno stadio di malattia avanzato, associato ad alterazioni spesso permanenti.(35, 36)

Lo sviluppo di nuove tecniche chirurgiche e l'introduzione di quelle percutanee ha pertanto posto l'enfasi sull'identificazione di pazienti asintomatici ad alto rischio.

In alternativa, e per i casi estremi, l'utilizzo di vasodilatatori in infusione, come il nitro-prussiato, può ridurre la pressione capillare polmonare ed incrementare la portata cardiaca (cardiac output, CO), diminuendo le resistenze vascolari e migliorando l'inotropismo.(37)

La sostituzione valvolare aortica ha notevolmente modificato il corso sfavorevole della valvulopatia. Il timing operatorio ottimale si associa infatti ad un rischio di eventi avversi long-term accettabile ed i pazienti sottoposti a sostituzione valvolare godono di una sopravvivenza libera da eventi paragonabile ai controlli sani di pari età.(38)

In pazienti con iniziali segni di disfunzione ventricolare sinistra, la riduzione del post-carico apportata dalla sostituzione valvolare migliora e spesso normalizza la frazione di eiezione.(39)

La mortalità operatoria rimane strettamente connessa alle comorbidità ed alle abilità dell'equipe chirurgica.

Tra le comorbidità associate a mortalità a 30 giorni e morbilità long-term figurano: età, ridotta FE globale, cardiopatia ischemica, precedente bypass aorto-coronarico,

insufficienza renale cronica (IRC), broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO). L'utilizzo di Score multi - parametrici, tra cui Euroscore (Standard, Logistico e II) e quello della Society of thoracic surgeons (STS score), ancorchè parziali, fornisce una stima piuttosto accurata dei rischi operatori.(40)

Negli ultimi 20 anni le complicanze per questo tipo di intervento si sono sensibilmente ridotte (2, 3), con mortalità del 3% per la procedura isolata o del 4,5% se associata a bypass.

Tuttavia, se consideriamo pazienti più anziani, il tasso di complicanze sale fino a raggiungere il 9% di mortalità.(41)

Le indicazioni ad intervento sono chiare nei pazienti sintomatici (42, 43) ma molto meno nel paziente asintomatico (44). Sebbene in questi ultimi la vigile attesa sia l'atteggiamento ad oggi più raccomandato, sia il tasso di sviluppo di sintomi con rapida necessità di intervento, come la mortalità complessiva con sola strategia conservativa, devono indurre oggi ad una revisione critica.(42, 45-47)

Tuttavia, ed in netta contrapposizione con ciò, fino al 30% dei pazienti sintomatici non viene attualmente sottoposto ad intervento, tanto per le comorbidità reali che per quelle presunte (fino al 22% dei pazienti con Euroscore<10%).(48, 49)

Questo, anche in un'epoca in cui gli interventi possono essere condotti per via mini-invasiva o percutanea.

Infatti la recente introduzione di interventi percutanei ha permesso di superare molti dei limiti imposti, arrivando ad effettuare interventi in pazienti più anziani ed a rischio più elevato.(50-53)

## **1A.FISIOPATOLOGIA DELLA STENOSI AORTICA**

L'ostruzione provocata dalla stenosi valvolare aortica determina alterazioni fisiopatologiche a lenta progressione nel tempo (anni o decenni).

Indipendentemente dalle cause, il sovraccarico pressorio si estrinseca mediante due meccanismi paralleli e sovrapposti (54, 55): l'ipertrofia concentrica ventricolare sinistra, che compensa lo stress di parete (Legge di Laplace) (10) e la progressiva alterazione della matrice extra-cellulare, esitante in fibrosi, ridotta compliance ventricolare sinistra e disfunzione diastolica.

E'principalmente quest'ultima fase a rappresentare, nel suo lento progredire, il fattore più importante per la comparsa dei sintomi.(56-58)

Durante la fase di compenso al sovraccarico pressorio, il ventricolo sinistro si adatta replicando sarcomeri in parallelo e sviluppando ipertrofia concentrica. Al fine cioè di compensare lo stress di parete, gli spessori ventricolari sinistri aumentano.(59)

L'aumento di dimensioni del miocita è una caratteristica peculiare del rimodellamento indotto dal sovraccarico pressorio.

Molte delle modifiche indotte dall'aumentato stress meccanico esitano in alterazioni della trascrizione a livello cellulare (TGF-beta; polimorfismi ACE). (60, 61).

Nelle fasi precoci l'ipertrofia è "benefica", poiché controbilancia l'aumentato postcarico, mantenendo volumi e frazione di eiezione nei limiti della norma.(62)

Già lo studio di Framingham aveva però messo in luce la progressione dell'ipertrofia con lo scompenso cardiaco e l'ipertrofia ventricolare viene considerata un marker di prognosi avversa in vari contesti.(63)

Nella stenosi aortica esiste una marcata variabilità nella risposta ipertrofica, e ciò ha un ruolo prognostico (64) e contribuisce a spiegare la marcata eterogeneità in termini di esordio dei sintomi e di progressione di malattia.

Con il tempo, l'afterload-mismatch (ipertrofia inadeguata al carico/stress di parete) può comportare una compromissione della contrattilità ed una progressiva riduzione della FE.(65)

Alterazioni della perfusione (riserva coronarica) e successivamente fibrosi contribuiscono a ridurre l'inotropismo.(66, 67)

Essendo la richiesta di ossigeno in un cuore ipertrofico superiore per la massa aumentata, le incrementate pressioni endocavitari ed il prolungato tempo di eiezione

(con conseguente riduzione della perfusione coronarica), ne deriva ischemia secondaria.

E' necessario precisare che all'esaurirsi del compenso garantito dall'ipertrofia, l'afterload-mismatch determina una compromissione della performance ventricolare sinistra, già presente quando ancora frazione di eiezione e diametrie/volumi ventricolari sono preservati.

In una fase precoce, la sostituzione valvolare è in grado di far regredire l'ipertrofia ventricolare, migliorare la performance sistolica e l'outcome clinico.(68)

Con il progredire della patologia, al semplice afterload-mismatch si associa una vera degenerazione contrattile, con scarse possibilità di recupero anche dopo sostituzione valvolare.(69-71)

Il processo adattativo, che muove verso il mal-adattamento, si completa infatti con la riduzione della densità capillare, la morte cellulare per apoptosi (non controbilanciata dalla rigenerazione) ed infine la fibrosi sostitutiva, con esiti pressoché definitivi.

La transizione verso la disfunzione ventricolare conclamata determina un netto scadimento della prognosi. Il meccanismo alla base della prognosi avversa risiede non soltanto nella disfunzione sistolica e diastolica (72, 73) o nello sviluppo di ipertrofia ma anche nell'importante substrato aritmico che si viene a creare (74, 75) e che permane anche dopo sostituzione valvolare.



## **1B.FIBROSI MIOCARDICA E VALUTAZIONE NON INVASIVA DELLA FIBROSI**

La fibrosi miocardica è l'espressione patologica del rimodellamento della matrice extra-cellulare, esitante in aumentata stiffness (76) e favorente la disfunzione miocardica.(77)

Anche se di più comune riscontro nel contesto della cicatrice ischemica, vi è un crescente numero di evidenze riguardo la presenza di fibrosi diffusa (reattiva) in contesti differenti rispetto a quello propriamente ischemico, come nella cardiopatia ipertensiva e diabetica, nella cardiomiopatie e, non ultimo, nella stenosi valvolare aortica.(78)

La matrice extracellulare è il frutto di un incessante processo di sintesi e degradazione tissutale ed è costituita da un'intelaiatura di collagene fibrillare, che fornisce resistenza ed elasticità.

La fibrosi può essere definita ripartiva o reattiva.

Nell'infarto miocardico acuto, la fibrosi ripartiva in sede di necrosi crea una cicatrice in grado di proteggere dalla rottura di cuore, mentre nel tessuto remoto si verificano ipertrofia miocitaria e fibrosi reattiva diffusa, in un circolo vizioso di rimodellamento che favorisce lo sviluppo di disfunzione miocardica.(79)

La fibrosi reattiva è un processo dettato da alterazioni meccaniche, fenotipiche e metaboliche.

Precedenti studi hanno dimostrato l'abnorme presenza di fibrosi tissutale nella stenosi aortica severa, con un rapporto sproporzionato rispetto alla componente cellulare miocitaria.(65, 80)

Lo sviluppo di fibrosi miocardica è una manifestazione patologica precoce e rappresenta un fattore centrale nello sviluppo di disfunzione diastolica e peggioramento della funzione sistolica. Contribuisce inoltre alla creazione di un importante substrato pro-aritmogeno. Complessivamente dunque, la fibrosi ha un ruolo fondamentale nella progressione verso lo scompenso e la morte cardiaca improvvisa.

Lo sviluppo di alterazioni della matrice extracellulare è infatti la vera chiave di volta per la progressione di malattia.

I fibroblasti infiltrano il miocardio e secernono proteine di matrice, incluso collagene tipo I e III.(81)

Aree di fibrosi si associano ad aree di apoptosi, ad indicare la progressiva sostituzione di tessuto vitale. Sono ritenuti responsabili di questo processo, tra gli altri, il sistema renina-angiotensina, il TGF-beta ed un'alterazione del bilancio tra metallo-proteinasi e loro inibitori.(69, 82)

L'entità della risposta ipertrofica sembra essere inoltre connessa con l'età avanzata, il sesso maschile e l'obesità. Fattori genetici infatti appaiono in grado di modulare l'ipertrofia in risposta a trigger fisiologici e patologici (afterload).(83, 84)

Di Bello et al., effettuando biopsie settali intra-operatorie in pazienti con stenosi aortica, hanno riscontrato la presenza di abbondante fibrosi interstiziale (intorno ai miociti o a singoli gruppi di miociti), variazioni di forma e dimensioni miocitarie con alterazione delle miofibrille e l'assenza di componente infiammatoria.(85)

La fibrosi interstiziale rimane significativamente incrementata nei soggetti con stenosi aortica anche dopo intervento, con correlata riduzione della tolleranza allo sforzo fino a 10 anni da questo.(86)

La fibrosi peraltro si è dimostrata correlare meglio della FE e dell'AVA con la classe funzionale NYHA (70) e gli outcome clinici dei pazienti con fibrosi avanzata sono nettamente inferiori rispetto a quelli con ridotta fibrosi.(87)

Per quanto riguarda la fibrosi, occorre ricordare inoltre che la sua entità può essere estremamente variabile ma tende ad essere più omogenea all'instaurarsi della disfunzione sistolica conclamata (ridotta FE).

Questa si localizza primariamente a livello sub-endocardico, e principalmente a livello dei segmenti basali (dove lo stress è maggiore), comportando successiva infiltrazione interstiziale e quindi sostitutiva (come evidente in studi di risonanza o anatomo-patologici).

La fibrosi interstiziale è un processo precoce, esito dell'aumentata sintesi di collagene e del rimodellamento della matrice extracellulare, mentre quella sostitutiva è generalmente il frutto di un processo patologico negativo protratto nel tempo.

La biopsia endomiocardica è il gold standard per la quantizzazione del contenuto di collagene miocardico.

Tuttavia oggi, le moderne tecniche di imaging sono in grado di fornirci indicatori sensibili e specifici di fibrosi. Molte metodiche sono state utilizzate per definire la presenza e le modifiche dinamiche della componente fibrotica. Questo è importante, nell'ottica di distinguere la fibrosi reattiva da quella riparativa (cicatrice).

La valutazione della fibrosi reattiva potrebbe peraltro essere effettuata mediante valutazione funzionale: di fatto, questa comporta una perdita di riserva contrattile ed un'accresciuta stiffness miocardica, proporzionale al grado di deposizione extracellulare.

Idealmente le metodiche di imaging possono essere suddivise in metodiche di visualizzazione della fibrosi (Risonanza magnetica cardiaca, CMRI; Integrated Backscatter, IBS; Medicina nucleare) e metodiche di valutazione della disfunzione sistodiastolica sub-clinica (CMRI; IBS; ma soprattutto ecocardiografiche: Tissue Doppler Imaging, TDI e Speckle Tracking Imaging, STI, con il calcolo di Strain e Strain Rate).

Le metodiche disponibili possono identificare pazienti a rischio di disfunzione miocardica legata alla fibrosi, permettendo una precoce introduzione della terapia.

Anche se molte metodiche di imaging sono state utilizzate per valutare la presenza, l'entità e le variazioni temporali della fibrosi, occorre considerare tre aspetti essenziali.

Per primo, la fibrosi reattiva deve per definizione escludere la presenza di cicatrici riparative o ischemia inducibile.

In secondo luogo, occorre tenere conto di tutte le evidenze indirette di fibrosi, pur considerando l'inferenza dovuta al fatto che molte sono state validate rispetto a campioni istologici.

Infine, la valutazione può essere rafforzata dal considerare i numerosi correlati funzionali (esiti) della fibrosi (disfunzione miocardica: stiffening; ridotta riserva contrattile).

La riflettività tissutale permette una caratterizzazione "istologica" ed una definizione della deposizione di collagene.(88)

In aggiunta alle caratteristiche qualitative M-Mode e bidimensionali della cicatrice, come l'acinesia e l'iper-riflettività, le metodiche di back-scatter sono state sviluppate intorno agli anni '80 per la quantizzazione della fibrosi reattiva.

La quantizzazione ecocardiografica si basa essenzialmente sulla video-densitometria ultrasonora e l'analisi della texture. Il back-scatter ha dimostrato di correlare tanto con il contenuto di collagene che con le concentrazioni incrementate di pro-collagene.(89)

Sono stati studiati due parametri, l'entità delle variazioni cicliche nel back-scatter e l'integrated-backscatter calibrato.

Il primo è un indicatore di funzione regionale, influenzato dall'anisotropia. Pur essendo alterato in condizioni di fibrosi diffusa è stato oggi soppiantato dalla valutazione dello strain.

Il secondo viene calcolato dalle curve di intensità tissutale (offline), e, qualora incrementato, è indicativo di elevata fibrosi, oltre ad essere utile nel definire la distribuzione trans-murale della stessa.

La misurazione dei pro-peptidi del pro-collagene offre l'attrattiva della rapidità e della facilità di dosaggio (73), pur essendo influenzata da comorbidità che ne possono alterare le concentrazioni plasmatiche.

Ad oggi, il pro-peptide carbossi-terminale del pro-collagene tipo I e l'amino-terminale del pro-collagene tipo III, sono stati utilizzati come markers di turnover interstiziale in numerosi contesti.

Le loro concentrazioni plasmatiche sono correlate al contenuto ed al turnover del collagene tissutale tipo I.

La matrice extracellulare miocardica contiene infatti collagene tipo I e III. A seguito della sintesi di pro-collagene I e III da parte dei fibroblasti, questi grandi peptidi sono rilasciati nella matrice extracellulare con intatte le estremità amino e carbossi-propetidiche

Il successivo clivaggio da parte di proteasi crea fibre di collagene tipo I e III, in un rapporto 1:1.

I frammenti pro-peptidici, il carbossi (PIP) ed amino terminale (PIIIP) del procollagene I e III, sono quindi rilasciati nel sangue. Se misurati, questi frammenti sono un indicatore surrogato di sintesi del collagene. L'accumulo di collagene accompagna il sovraccarico pressorio cronico e comporta lo sviluppo di stiffness miocardica.(69, 90)

Esiste un preciso gradiente tra sintesi e degradazione di collagene, riflesso dalle concentrazioni differenziali di pro-peptide (sintesi) e telo peptide (degradazione), con uno shift verso la sintesi che ne favorisce l'accumulo (fibrosi).

Anche i livelli di espressione di RNA codificante per il collagene risultano incrementati in questo contesto e sono associati ad incrementi sierici e tissutali di tali peptidi.

Recentemente, la possibilità di dosare i Micro RNA plasmatici (miRNA), li ha resi potenziali marcatori bio-umorali in vari contesti clinici. I miRNA sono piccoli RNA non codificanti che modulano l'espressione di geni target mediante soppressione della trascrizione e/o induzione della degradazione dell'RNA messaggero. L'espressione aberrante dei miRNA è associata a numerose condizioni fisiopatologiche, incluse patologie cardiovascolari.(91)

Poiché il pattern di espressione dei miRNA varia in base al tipo di patologia cardiaca, si ritiene che questi possano rivestire un ruolo peculiare nei processi patologici e, come tale, essendo dosabili, avere il potenziale ruolo di biomarcatori. In particolare il miRNA21 ha dimostrato di essere strettamente coinvolto nei processi di rimodellamento miocardico associati al sovraccarico emodinamico, come quello pressorio mediato dal TGF-beta, e nella fibrosi della matrice extracellulare.(92)

Un recentissimo lavoro ha dimostrato il ruolo pro-fibrotico ritenuto dal miRNA21 ed il legame dei livelli tissutali e plasmatici del marcatore con il gradiente transvalvolare medio in pazienti con stenosi aortica severa rispetto ad ipertesi e soggetti normali.(93)

La risonanza magnetica cardiaca è stata estesamente applicata per definire la cicatrice miocardica ed è la metodica non invasiva di riferimento per la quantizzazione della fibrosi focale. Il delayed-enhancement è in grado di identificare regioni di fibrosi pari a 0,16 grammi di tessuto, come aree di segnale aumentato.(94)

A differenza del contesto ischemico, in cui la fibrosi è sub-endocardica o transmurale, in assenza di ischemia la distribuzione è irregolare, finanche sub-epicardica.

La fibrosi è di frequente riscontro nell'ipertrofia ventricolare sinistra ed il delayed enhancement si associa al grado di rimodellamento ed alla pressione tele-diastolica, a supporto del ruolo della fibrosi in tale contesto.(95)

La fibrosi intramocardica ha un pattern di distribuzione medio parietale (mid-wall) nel 38% dei pazienti con stenosi aortica moderata e spiccata risposta ipertrofica, e si associa un aumento di mortalità di quasi 8 volte.(96)

Essendo tuttavia la fibrosi reattiva un fenomeno diffuso nel contesto non ischemico, il delayed-enhancement non fornisce risultati attendibili, perché può mancare il correlato miocardico normale di riferimento.

L'introduzione del T1 mapping consente di superare questo limite ed è stato validato rispetto alla istologia.(97)

L'ecocardiografia convenzionale, con la valutazione della frazione di eiezione, dello spessore parietale e delle dimensioni atriali, fornisce solo una stima grossolana della funzione ventricolare e delle pressioni di riempimento.

Il TDI permette di valutare le velocità tissutali ed i parametri di deformazione miocardica. La riduzione delle velocità tissutali sisto-diastoliche propria anche della senescenza, ha dimostrato di correlare con la fibrosi tissutale in vari contesti.(98)

Recentemente è divenuto possibile valutare la meccanica cardiaca con le metodiche di deformazione miocardica ed il tagging in risonanza.

Lo strain e la sua variazione temporale (strain rate), valutati con metodica speckle-tracking o TDI, possono fornire importanti marcatori di fibrosi. Il tagging del tessuto miocardico con una matrice di radiofrequenza a saturazione (risonanza magnetica) consente una valutazione multidimensionale della deformazione miocardica.(99)

In modelli animali di ipertensione arteriosa, l'area di fibrosi sub-endocardica (stima percentuale) è risultata un determinante indipendente del global longitudinal strain. Come tale, il parametro può essere dunque inteso come un buon indice surrogato di fibrosi tissutale.

Se confrontato con risonanza magnetica, il global longitudinal strain ha mostrato di avere correlazione con il delayed-enhancement (fibrosi) in pazienti con cardiomiopatia dilatativa post-ischemica.

Il global longitudinal strain ha inoltre buona correlazione con il numero di segmenti fibrotici ( $r=0.47$ ;  $p=0.002$ ) e la fibrosi miocardica (valutata mediante risonanza magnetica) totale in pazienti con cardiomiopatia ipertrofica (100), mentre lo strain rate diastolico durante infusione di dobutamina ha dimostrato di identificare con

notevole accuratezza segmenti con interessamento infartuale transmurale superiore al 20% e di correlare strettamente con l'estensione transmurale della fibrosi interstiziale ( $r = -0.86$ ;  $P < 0.01$ ), avendo anche un potenziale ruolo nell'identificazione della vitalità.(101)

Il ridotto global longitudinal strain (GLS), in particolare a livello dei segmenti basali, è associato ad aumentata fibrosi valutata con metodica CMRI e depone per un'alterata risposta all'esercizio ed eventi nel follow-up.(102)

## **1C.ECOCARDIOGRAFIA NELLA STENOSI AORTICA**

L'ecocardiografia trans-toracica, data la sua accessibilità e non invasività, è la prima modalità diagnostica indicata per lo studio dell'anatomia valvolare (esclusione di bicuspidia aortica o valvulopatia reumatica), della severità della stenosi e della risposta ventricolare sinistra al sovraccarico emodinamico.

Attualmente, come noto, i reperti obiettivi ed i sintomi del paziente, assieme ai dati emodinamici invasivi e non invasivi, sono i principali fattori in grado di influenzare la gestione del paziente affetto da stenosi valvolare aortica severa.(103)

La valutazione emodinamica della stenosi aortica si basa essenzialmente su indici flusso dipendenti (velocità; gradienti massimo e medio) e sulla stima dell'area valvolare aortica, ottenuti mediante ecocardiografia (l'utilizzo del cateterismo cardiaco è oggi limitato a casi selezionati).

Indicatori di severità della valvulopatia sono la velocità massima attraverso l'orificio stenotico (V max), il gradiente medio (G med) calcolato secondo equazione di Bernoulli e l'area funzionale (AVA) calcolata secondo equazione di continuità. Gradiente medio ed area valvolare sono stati validati rispetto a misure invasive e rappresentano oggi lo standard clinico.(104)

Questi parametri di comune utilizzo non sono ottimali, poiché correlati in maniera limitata con la sintomatologia del paziente, solo in parte associati alla prognosi e variabili poiché flusso dipendenti.(105)

Il calcolo dell'AVA risulta fondamentale, in quanto meno influenzato da condizioni di aumentato flusso (insufficienza valvolare) o ridotto flusso (ventricoli di ridotto volume, disfunzione ventricolare al progredire della valvulopatia con la riduzione dello stroke volume).

La severità della stenosi aortica, valutata in termini di area valvolare, rimane infatti un determinante centrale di prognosi in pazienti sintomatici.(106)

L'indicizzazione dell'area valvolare per la superficie corporea (AVAi) risulta appropriata nell'ottica di considerare pazienti più minuti, con aree di per sé ridotte ma, di converso, può non essere del tutto appropriata in pazienti obesi e sovrappeso.

La valutazione del rapporto velocità out flow/velocità valvolare (Velocity Ratio, V-R) può dunque essere utile in quanto tiene conto delle dimensioni del tratto di efflusso del paziente.



La valutazione planimetrica dell'area valvolare, è limitata dall'anatomia non-planare della valvola stenotica e dal riverbero acustico, a volte assai considerevole, che può limitare persino l'approccio trans-esofageo o tridimensionale (3D).

Il cateterismo cardiaco viene eseguito in caso di discrepanze nell'iter diagnostico, oltre che per valutare l'anatomia coronarica e le pressioni di riempimento ventricolari, tenendo conto del fenomeno, non infrequente in pazienti con ridotte dimensioni dell'aorta ascendente, del pressure recovery.

Volumi, massa e funzione sistolica sinistre possono essere valutati tanto con ecocardiografia bidimensionale che tridimensionale.

Studi prospettici hanno mostrato la V max essere un predittore importante per lo sviluppo di sintomi e l'outcome clinico. Adulti con velocità superiori a 4 metri/sec (Gradiente medio >40 mmHg) sviluppano sintomi e richiedono l'intervento entro 2 anni fino all'80% dei casi (il 25-35% per velocità comprese tra 3 e 4 m/Sec; il 15 % circa per velocità inferiori a 3 m/sec, con Gradiente medio inferiore a 20 mmHg: stenosi lieve).

Il tasso di variazione della V max può aiutare a definire ulteriormente la progressione di malattia.(8, 9)

Velocità particolarmente elevate, superiori ai 5 m/sec, o gradienti medi superiori a 60 mmHg, si associano ad più alto e precoce tasso di eventi, con sintomi di esordio più marcati.(107)

La valutazione dell'energy loss index (ELI) tiene conto del fenomeno del pressure recovery ed è capace di predire gli eventi nell'asintomatico.(108)

Oltre ai pazienti con stenosi valvolare aortica low-flow/low-gradient, il cui iter valutativo deve necessariamente comprendere una valutazione della riserva contrattile mediante eco-dobutamina, si è recentemente andato definendo un significativo sotto-gruppo di pazienti con stenosi severa e paradossale basso flusso/gradiente (10-35%).

Malgrado infatti frazioni di eiezioni superiori al 50%, questi soggetti presentano aree valvolari superiori ad 1 cm<sup>2</sup> e velocità comprese tra 3 e 4 m/sec, con gradiente medio tra 20 e 40 mmHg. Lo stroke volume indicizzato di questi pazienti risulta inferiore ai 30-35 ml/m<sup>2</sup>.

Tale realtà si riscontra frequentemente in pazienti con notevole grado di ipertrofia parietale, ridotte dimensioni cavitare, limitata superficie corporea, ridotta funzione longitudinale ed incrementato post-carico vascolare.(109)

E' pertanto invalsa la tendenza a riconsiderare la stenosi aortica sulla base del flow-rate, tenendo conto tanto dell'anatomia valvolare che delle condizioni emodinamiche (normotensione).

Se il test ergometrico fornisce una valutazione oggettiva della capacità di esercizio, soprattutto quando la stenosi è emodinamicamente severa ed il paziente è pauci/asintomatico (sviluppo di sintomi e calo pressorio/ipotensione depongono per una severità della valvulopatia)(110), la valutazione con eco-sforzo fornisce dati ancora più obiettivi in tale senso. In particolare, significativi incrementi di gradienti e velocità trans-valvolari o lo sviluppo di ipertensione polmonare, anche in assenza di sintomi e prova da sforzo normale (criteri ECG; pressione arteriosa), predicono eventi avversi.

La calcificazione valvolare severa (soprattutto se valutata con indagine TAC), correla con il grado di patologia, e si associa a ridotta sopravvivenza.(111)

Attualmente inoltre, la valutazione della severità della valvulopatia non deve prescindere da quella del carico globale imposto sul ventricolo sinistro, come nei soggetti anziani (stiffening), e viene valutata come impedenza valvulo arteriosa ( $Z_{VA}$ ). Tale indice integra sia la componente valvolare che vascolare di post-carico, si associa a ridotta sopravvivenza, compromissione della funzione sistolica e comparsa di sintomi.(112)

L'ipertrofia inappropriata (che eccede il 10% del valore predetto in base ad età, sesso e stroke work) è un significativo predittore di eventi avversi, anche post-operatori (low-flow) nel paziente asintomatico.(18)

L'ipertensione polmonare severa, risultato di aumentate pressioni di riempimento ventricolare e resistenze vascolari polmonari, è presente in meno del 60% dei casi ed è severa nel 15-20% dei pazienti.(113)

L'ipertensione polmonare severa, basale o da sforzo, è associata a sintomatologia più avanzata, mortalità incrementata con terapia medica e complicanze operatorie e perioperatorie maggiori.

## **1D.VALUTAZIONE DELLA FUNZIONE SISTOLICA NELLA STENOSI AORTICA: limitazioni delle attuali metodiche e ruolo potenziale dello speckle tracking imaging**

L'unico parametro di funzione sistolica attualmente preso in considerazione nella gestione dei pazienti con stenosi aortica, quello fino ad ora legato alle maggiori implicazioni prognostiche, è la frazione di eiezione ventricolare sinistra.(103)

E'tuttavia opportuno ricordare che la frazione di eiezione è un parametro strettamente legato alla geometria ventricolare sinistra e che può risultare estremamente inaccurato nella stima della reale disfunzione sistolica in presenza di rimodellamento/ipertrofia concentrici, come nel caso dei pazienti affetti da stenosi valvolare aortica severa.(114)

Già nel '79 (115), era stata dimostrata una riduzione della funzione longitudinale in presenza di preservata FE. Gli autori spiegano tale apparente incongruenza con la dipendenza della FE dalla geometria di camera. Vi è indubbiamente una relazione indipendente tra FE e relative wall-thickness (RWT) (116), così che per gradi simili di accorciamento miocardico, la FE o qualsiasi parametro basato sull'accorciamento endocardico (come il fractional shortening, FS) incrementano all'aumentare del grado di ipertrofia.

Pertanto, l'aumentato spessore legato al rimodellamento ed all'ipertrofia concentrica determina una sorta di compenso nel displacement endocardico. Ne risulta una FE paradossalmente preservata, se non super-normale, in presenza di una pressoché sistematica riduzione della funzione longitudinale.

Tali parametri di funzione ventricolare sinistra basati sul displacement endocardico possono a lungo rimanere immutati nonostante le notevoli alterazioni instaurate a livello sub-endocardico.

Recenti evidenze hanno dimostrato che pazienti con frazione di eiezione altresì preservata, ma ridotte velocità e gradienti trans-valvolari, hanno un post-carico nettamente aumentato ma soprattutto si collocano ad uno stadio successivo di compromissione della funzione contrattile. In particolare, la fibrosi reattiva all'incrementato e protratto post-carico può risultare la responsabile del progressivo

scadimento della funzione longitudinale, che è solo marginalmente rappresentata dalla frazione di eiezione globale.

Solo con il peggiorare della fibrosi e la degenerazione dei miociti si assiste ad un progressivo (quanto tardivo) incremento delle pressioni di riempimento ventricolare e al declino della frazione di eiezione.

Pazienti con stenosi valvolare aortica moderata mostrano buoni valori di funzione radiale e longitudinale. Pazienti con stenosi aortica severa hanno una funzione radiale sostanzialmente preservata ed un'iniziale riduzione della funzione longitudinale, che risulta in un normale stroke volume (e gradienti trans-valvolari).

In pazienti con stenosi aortica paradoxical low-flow/low-gradient, la FE risulta normale per compenso della funzione radiale, mentre marcata è la riduzione della funzione longitudinale (con risultante riduzione dello stroke volume e di tutti gli indici flusso-dipendenti).

Lo sviluppo delle metodiche di imaging, in particolare ecocardiografiche, permette tuttavia l'introduzione di indici più sensibili di funzione sistolica, in grado cioè di rilevare la presenza di disfunzione in presenza di preservata FE.

Se già il MAPSE è in grado di rilevare le alterazioni sub-cliniche della funzione longitudinale (70), l'impiego del TDI, pur inficiato dalle limitazioni proprie della metodica Doppler, consente una stima delle velocità tissutali (ridotte) ed una derivazione (per quanto indaginosa e scarsamente riproducibile, se non in mano ad operatori esperti) degli indici di deformazione miocardica.

Numerosi lavori basati su strain di derivazione Doppler hanno evidenziato la presenza di valori di deformazione miocardica (ispessimento/accorciamento) ridotti in pazienti con stenosi aortica severa.(117, 118)

Superando queste limitazioni, lo speckle tracking consente una valutazione multi direzionale della deformazione miocardica e potrebbe dunque migliorare l'identificazione dei pazienti da candidare ad intervento di sostituzione valvolare aortica prima che le alterazioni tissutali risultino irreversibili (timing operatorio), con conseguente incremento delle chances di recupero post-operatorio e miglioramento clinico.

## **1E.LO SPECKLE TRACKING**

Lo speckle-tracking imaging (STI) (119) è una metodica ecocardiografica introdotta in epoca relativamente recente, angolo indipendente, utilizzata per la valutazione non invasiva della funzione miocardica e della meccanica cardiaca. Le analisi vengono effettuate in modalità semi-automatica, off-line, su immagini bidimensionali di sufficiente qualità (elevato frame rate). Gli speckle che si rilevano in una immagine bidimensionale in scala di grigio sono il risultato di interferenze acustiche distruttive e costruttive generate dagli ultrasuoni riflessi da strutture più piccole della loro lunghezza d'onda. Con questa metodica, gli speckles, che rappresentano una sorta di impronta digitale (raggruppamento di più speckles in kernel) all'interno dell'immagine, temporaneamente stabile, vengono "seguiti" (tracking) durante i cicli cardiaci (frame-by-frame).

Questo consente di derivare parametri quali velocità, strain e strain rate.

A differenza del calcolo delle velocità tissutali, influenzate del movimento e dal tethering, strain e strain rate riflettono la funzione regionale miocardica.

Per definizione, quando due punti del miocardio si muovono a differenti velocità il miocardio si deforma. In alternativa si ha movimento, ma non deformazione.

Lo strain e lo strain rate sono pertanto accurate misure di deformazione.

Lo strain imaging ha dimostrato di essere la metodica ecocardiografica più accurata nella valutazione della meccanica ventricolare sinistra e pertanto, è in grado di descrivere accuratamente le alterazioni precoci anche nei pazienti con stenosi aortica severa. Lo STI consente una valutazione angolo indipendente dello strain e dello strain rate nelle tre direzioni, fornendo una stima globale della contrattilità ventricolare sinistra.

Il valore di strain è adimensionale ed è espresso in percentuale. Lo strain rate è la derivata temporale dello strain (1/sec): mentre il primo indica l'ammontare totale della deformazione, il secondo indica il tasso di deformazione istantaneo. Questo ha un picco sistolico e due diastolici, proto e tele-diastolico.

Uno strain rate positivo indica che un tessuto si sta allungando, viceversa nell'accorciamento.

Lo strain longitudinale rappresenta la percentuale di accorciamento miocardico in sistole, ed è espressa in percentuale negativa.

Lo strain radiale rappresenta invece l'ispessimento trasmurale (positivo in sistole), mentre il circonferenziale l'accorciamento del perimetro (negativo in sistole).

I parametri di strain e strain rate possono essere segmentari o espressi come valori globali (media).

Rispetto alla metodica tissutale, la valutazione mediante speckle-tracking consente di determinare questi parametri in ogni direzione lungo il piano di scansione.

La metodica è stata validata per la deformazione miocardica tanto in modelli sperimentali in vivo ed in vitro (sonomicrometria) che nella pratica clinica rispetto al TDI ed al tagging (risonanza magnetica).(120, 121)

Come sappiamo da studi autoptici, la struttura cardiaca è ben descritta da un modello a doppia elica con una regione sub-endocardica che contribuisce per larga parte all'eiezione ventricolare (fibre longitudinali) mentre le fibre centrali (midwall) e sub-epicardiche contribuiscono alla rotazione ed all'ispessimento trans-murale.(122)

Come regola generale, la meccanica longitudinale, dipendente come enunciato dalle fibre longitudinali, è la componente più vulnerabile in caso di patologia miocardica. In assenza di alterazioni a carico delle componenti mesocardia e sub-epicardica, alterazioni della funzione longitudinale esitano in disfunzione diastolica, mentre quelle trans-murali comportano una riduzione della funzione sistolica e della frazione di eiezione globale.(123, 124)

Tanto per le valutazioni tissue Doppler imaging (TDI) che speckle tracking, il calcolo dei parametri longitudinali è più affidabile ed ampiamente validato rispetto alle componenti radiali e circonferenziali. Le velocità a livello laterale sono superiori rispetto al setto ed esiste un gradiente base-apice (velocità più elevate alla base; strain e strain rate meno variabili). Le misure dei parametri ottenuti con speckle-tracking sono più elevate a livello apicale ed a livello sub endocardico rispetto al sub-epicardio.

I parametri di deformazione miocardica sono influenzati sia dall'età che dalle condizioni di carico. Un recente ed esteso studio ha mostrato i limiti inferiori dello strain longitudinale essere -18,5% ed 1,0 1/sec per il global longitudinal strain rate sistolico.(125)

Lo strain e lo strain rate aumentano la sensibilità di identificare il coinvolgimento miocardico sub-clinico in una vasta serie di patologie

L'utilità clinica dei parametri di deformazione miocardica nella valutazione della disfunzione diastolica è solo in parte nota ma può avere applicazione nella valutazione del rilasciamento isovolumetrico, nella proto e nella tele-diastole.

Fra i determinanti emodinamici dello strain rate proto-diastolico rientrano la stiffness regionale diastolica, il rilassamento ventricolare, la funzione sistolica, lo stress parietale tele-sistolico e le pressioni di riempimento. In aggiunta, lo strain rate proto-diastolico ha mostrato di essere utile nella stima della fibrosi, come dopo infarto miocardico.(126)

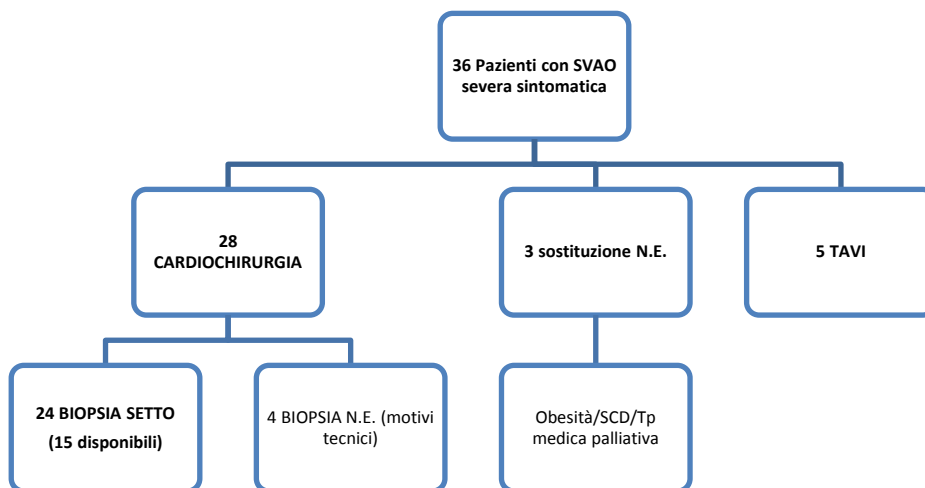
Molti studi hanno mostrato una relazione tra strain protodiastolico e costante di rilassamento Tau.(127)

Recentemente, il rapporto  $E/GLSrE$  è risultato correlare strettamente con le pressioni di riempimento ventricolari sinistre e la costante Tau, valutate invasivamente, in pazienti con cardiomiopatia ipertrofica ed avere un potere prognostico per morte e riospedalizzazioni per scompenso in una coorte di pazienti infartuati e di eventi avversi in pazienti con fibrillazione atriale, in maniera additiva rispetto al rapporto  $E/E'$ .(128-130)

## **2.MATERIALI E METODI**

### **2A.SCOPO DELLO STUDIO**

Valutazione dei principali parametri di deformazione miocardica mediante metodica 2-D speckle-tracking (STI) in pazienti affetti da stenosi valvolare aortica severa sintomatica e frazione di eiezione preservata, sottoposti ad intervento cardiocirurgico di sostituzione valvolare (rischio operatorio Euroscore intermedio-basso). Correlazione degli indici di deformazione miocardica con parametri clinici, ecocardiografici convenzionali e tissutali (fibrosi miocardica sostitutiva), dopo studio bioptico del setto inter-ventricolare basale (versante sinistro).



**Figura 1-Overview della popolazione studio.**

### **2B.CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE DI STUDIO**

Tra l'Ottobre 2013 ed il Maggio 2014, 36 pazienti consecutivi (Figura 1) (Età 75.2+/- 8 anni; 63% sesso femminile; Tabella 1) affetti da valvulopatia aortica calcifico-degenerativa con stenosi prevalente di severa entità ( $AVA_i < 0.6 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ ) sintomatica (Classe NYHA all'ingresso: 2.06 +/- 0.6; CCS 1.5 +/- 0.5; esordio con sincope nell'8% dei casi), candidati a sostituzione valvolare (Euroscore II 2.28 +/- 1.13%; Logistic Euroscore: 6 +/- 4.1%) presso il Dipartimento Cardio-Toracico di Pisa, sono stati sottoposti a valutazione integrata pre-operatoria includente:



- Valutazione clinica (Anamnesi, esame obiettivo; stima del rischio operatorio secondo criteri Euroscore; calcolo della Body surface area, BSA, m<sup>2</sup>)
- Elettrocardiografica (valutazione dell'ipertrofia ventricolare sinistra secondo criteri Sokolow-Lyon, indicativa nel 75% dei casi di ipertrofia; 8% dei casi fibrillazione atriale)
- Biumorale (esami ematochimici di routine, includenti peptide natriuretico cerebrale, BNP ng/ml; Troponina-ad alta sensibilità (hs), pg/ml; proteina C-reattiva, PCR; valutazione plasmatica del miRNA21 in 31 dei pazienti)
- Ecocardiografica trans-toracica (modalità M-Mode, 2D, Color Doppler, Tissue-Doppler imaging, Speckle-tracking imagin

**Tabella 1- Caratteristiche cliniche della popolazione**

<b>CARATTERISTICA</b>	<b>NUMERO (n.36)</b>	<b>%</b>
CORONAROPATIA (<= stenosi 50% epicardiche)	12	33
BPCO	8	22
ANEMIA	14	38
INS. RENALE CRONICA	22	61
DIABETE MELLITO	8	22
IPERTENSIONE ARTERIOSA	31	86
DISLIPIDEMIA	21	58
<b><u>TERAPIA MEDICA PRE- OPERATORIA</u></b>		
ACE INIBITORE	15	41
SARTANO	10	27
ANTI-ALDOSTERONICO	2	5
DIURETICO	14	38
CALCIO-ANTAGONISTA	6	10

Sono stati scartati tutti i pazienti che presentavano uno o più criteri di esclusione (Tabella 2).

**Tabella 2-Criteri di esclusione**

<b>CRITERI DI ESCLUSIONE</b>
<i>Instabilità clinica</i>
<i>Rifiuto di firmare il consenso informato</i>
<i>Gravidanza in atto</i>
<i>Scadente finestra acustica</i>
<i>Pregresso infarto miocardico/sindrome coronarica acuta/CAD&gt;50%</i>
<i>Steno/insufficienza valvolare associata di significativa entità (criteri ecocardiografici)</i>
<i>Eziologia reumatica/non calcifico-degenerativa</i>
<i>Ridotta FE globale &lt; 50%</i>
<i>Presenza di elettro-stimolatori/Blocco di branca sinistra</i>
<i>Comorbidità di rilievo (nefropatia cronica in terapia emodialitica; neoplasie attive; cachessia)</i>

La classe funzionale dei pazienti è stata valutata mediante classe NYHA (Stadio I-IV). In presenza di sintomatologia anginosa, i pazienti sono stati caratterizzati secondo classificazione della Canadian Cardiovascular Society (Stadio I-IV).

Tutti i pazienti hanno firmato un modulo di consenso informato al protocollo, preventivamente approvato dal comitato etico locale.

## **2C.ECOCARDIOGRAFIA CONVENZIONALE**

In tutti i pazienti è stata eseguita un'acquisizione ecocardiografica standard e mirata alla valutazione Speckle-Tracking, secondo le attuali linee guida.(119, 131)

L'ecocardiografia è stata eseguita con apparecchio dedicato (Vivid-7, General Electric-Vingmed, Milwaukee/Horten, WI-USA/Norway) e gating ECG.

Le immagini sono state acquisite con paziente il decubito laterale sinistro o destro per ottenere una proiezione mirata alla valutazione della valvulopatia aortica, ad una profondità variabile di 14-20 cm.

I dati sono stati acquisiti con trasduttore da 3,5 mHz (M4S) in proiezione parasternale asse lungo/corto e nelle proiezioni apicali (2, 3, 4, e 5 camere). Per tutte le misure in cui risultava necessario, è stata effettuata indicizzazione (i) per la superficie corporea. Le dimensioni lineari ventricolari sinistre (centimetri, cm) sono

state calcolate tramite metodica M-mode (o, qualora non eseguibile, mediante metodica 2D dalla parasternale asse lungo), includendo diametri cavitari (End-diastolic-diameter, EDD/EDDi; End-systolic-diameter, ESD/ESDi), spessori settali e della parete infero-laterale in sistole e diastole (Inter-ventricular-septum-diameter-sys/dia,  $SIV_{s/d}$ ; Posterior-wall-diameter-sys/dia,  $PWD_{s/d}$ ).

La massa ventricolare sinistra (LVM, g) è stata calcolata con metodica bidimensionale (Devereux/ASE) ed indicizzata per la body surface area (BSA-Mosteller,  $m^2$ ; LVMi). L'ipertrofia ventricolare sinistra è stata definita in presenza di valori superiori a  $115 \text{ g/m}^2$  nell'uomo e  $95 \text{ g/m}^2$  nella donna.(132)

Al fine di caratterizzare il tipo di ipertrofia è stato calcolato il relative wall thickness (RWT) ed il rapporto massa/volume tele-diastolico (M/Vratio, g/ml).

I volumi ventricolari sinistri (End-Diastolic/End-Systolic Volume-EDV/ESVi; ml) sono stati calcolati mediante metodo della sommazione dei dischi (Simpson) per derivare la frazione di eiezione (FE, %) nelle proiezioni 4 e 2 camere apicale. La frazione di eiezione (FE, %) e la frazione di accorciamento (FS, %) sono state calcolate secondo metodica di Teicholz dalla proiezione parasternale. La concordanza tra FE calcolata linearmente e con Simpson è risultata ottimale ( $k=0,8$ ;  $p<0.0001$ ). A completamento dello studio dei parametri di funzione sistolica convenzionali sono stati valutati la Mitral annular plane systolic excursion (MAPSE), come media dell'escursione anulare settale e laterale in 4 camere, e la velocità sistolica di picco settale e laterale ( $S's/S'l$ , cm/sec) al Tissue-Doppler Imaging (TDI) anulare.

Il calcolo delle dimensioni lineari (Left Atrial dimension; LAD, cm), area e volume atriale sinistro (non indicizzato ed indicizzato; LAV/LAVi,  $ml\text{-}ml/m^2$ ) è stato effettuato con metodica lineare dalla proiezione parasternale e secondo metodica dei dischi dalla proiezione 2 e 4 camere apicale.

Lo stroke volume (SV-VTI, ml) è stato calcolato valutando l'integrale velocità tempo con metodica Doppler pulsato ed il diametro del tratto di efflusso sinistro (LVOT, cm) in parasternale asse lungo, quindi indicizzato per la superficie corporea (SV-VTIi,  $ml/m^2$ ). E' stato contestualmente effettuato il calcolo della portata e dell'indice cardiaco.

La velocità massima e media aortiche sono state calcolate con metodica Doppler continua ( $V_{max}/V_{med}$ , m/sec) derivandone successivamente il gradiente massimo secondo l'equazione di Bernoulli modificata ( $G_{max}$ , mmHg). È stato inoltre calcolato il rapporto delle velocità di picco trans-valvolare e a livello dell'outflow (Velocity Ratio, V-R).(104)

Il gradiente medio ( $G_{med}$ , mmHg) è risultato dalla stima dei gradienti istantanei su traccia Doppler continua durante l'eiezione ventricolare. Come stima dell'afterload globale, è stata inoltre valutata l'impedenza valvulo-arteriosa ( $Z_{VA}$ , mmHg/ml/m<sup>2</sup>). (20)

L'area valvolare aortica ( $AVA$ , cm<sup>2</sup>) è stata calcolata secondo equazione di continuità ed indicizzata per la superficie corporea ( $AVA_i$ , cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>).

È stata inoltre effettuata una stima qualitativa dell'insufficienza valvolare aortica mediante Color Doppler, dopo adeguamento del guadagno e del limite di Nyquist.

La funzione diastolica è stata valutata mediante velocità transmitralica al Doppler pulsato (Onda E, cm/sec; onda A, cm/sec; rapporto E/A; Deceleration Time-DT, msec) e TDI (onda proto diastolica E' e tele diastolica A' a livello settale e laterale, cm/sec). È stato inoltre valutato il rapporto E/E' medio (setto/laterale) per fornire una stima non invasiva delle pressioni telediastoliche ventricolari sinistre.(133)

La stima della funzione sistolica destra è stata effettuata mediante calcolo della Tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE, cm).

Il calcolo della pressione sistolica in arteria polmonare è stato effettuato mediante campionamento della velocità di picco del Jet da rigurgito tricuspidalico (se presente), derivandone il gradiente massimo e sommandovi la stima della pressione atriale destra valutata sulla base di anatomia atriale e collassabilità della vena cava inferiore.

## **2D.SPECKLE TRACKING**

È stata effettuata una valutazione comprensiva dei principali parametri di deformazione miocardica (strain; strain rate sistolico e proto-diastolico) utilizzando lo speckle-tracking bidimensionale (STI). Lo studio si è concentrato sui parametri di deformazione longitudinale, considerate le maggiori evidenze in letteratura in termini prognostici e le significative limitazioni (elevata variabilità inter ed intra-operatore;

scarsa riproducibilità) esistenti per i parametri circonferenziali e trans-murali anche in presenza di ipertrofia ventricolare sinistra, nonché le limitazioni dovute alla finestra acustica parasternale (habitus dei pazienti; comorbidità).

Sono state pertanto acquisite immagini bidimensionali in scala di grigio a livello apicale 2, 4 ed asse lungo, con un frame rate compreso tra 50 e 110 frames/secondo (fps).

I dati sono stati acquisiti con gating ECG, durante apnea inspiratoria, con una media di 3 cicli (6 per i pazienti in fibrillazione atriale) per proiezione e rielaborati successivamente su workstation dedicata in modalità off-line (EchoPAC 10, GE, Vingmed-Horten, Norway), secondo modalità precedentemente definite.(134, 135)

In sintesi, il contorno endocardico viene tracciato manualmente in un frame tele-sistolico, selezionato tra i disponibili in base alla qualità e presenza di artefatti. Il software provvede quindi a tracciare una regione di interesse (region of interest, ROI) che ingloba l'intera parete miocardica. Viene quindi effettuata una verifica del tracking ed un eventuale adeguamento della larghezza della regione di interesse, se necessario.

Quindi, si effettua una valutazione dello strain segmentario dividendo ciascuna delle 3 proiezioni acquisite in 6 segmenti (18 segmenti totali). Si considera accettabile una misurazione che consenta in ogni proiezione la valutazione dei parametri di deformazione in almeno 4 dei 6 segmenti.

Sono stati infine ricavati i valori di strain longitudinale sistolico di picco % e di strain rate longitudinale sistolico e proto-diastolico per ogni segmento, la cui media complessiva ha fornito i valori globali (Global longitudinal Strain-GLS %, Global longitudinal Strain Rate-GLSrS e GLSrE, 1/sec).

E' stato infine calcolato il rapporto tra onda E mitralica e GLSrE (E/GLSrE, cm) come parametro di funzione diastolica.

## **2Da-SPECKLE TRACKING SETTALE**

Al fine di ottenere una maggiore precisione nel confronto con i preparati istologici, una singola ROI (3 segmenti) è stata tracciata a livello del setto anteriore (proiezione apicale asse lungo) ed inferiore (proiezione apicale quattro camere) basale (sede supposta della biopsia settale), in acquisizioni mirate (ridotta ampiezza di settore; frame rate medio 100 fps). A tale livello sono stati calcolati, in analogia con le misure globali, strain longitudinale sistolico (SLs, %), strain rate sistolico (SrSs, 1/sec) e proto diastolico (SrEs, 1/sec). E' stata infine effettuata una media delle misurazioni segmentarie ottenute a livello settale anteriore ed inferiore.(136)

Per l'analisi speckle tracking, il coefficiente di correlazione globale intraclass (Analisi Bland Altman) per la riproducibilità intra ed interoperatore, valutata su dieci campioni casuali, è risultato rispettivamente 0.94 (0.79-0.98) per lo strain e 0.88 (0.74-0.98) per i parametri di strain rate.

## **2E.CATETERISMO CARDIACO**

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a coronarografia pre-intervento e, qualora consentito dall'anatomia valvolare o in caso di incongruenze all'ecocardiografia, cateterismo cardiaco sinistro ed aortografia, al fine della valutazione della pressione telediastolica e telesistolica ventricolari sinistre, del gradiente picco-picco (manovra di ritiro) e del grado di insufficienza aortica associate (Criteri di Sellers). Quest'ultimo ha mostrato di concordare strettamente ( $k=0.80$ ;  $p<0.05$ ) con il dato ecocardiografico.

La stima della pressione tele-diastolica ventricolare sinistra ottenuta con ecocardiografia ha mostrato una stretta concordanza con quella invasiva ( $k=0.78$ ;  $p<0.0001$ ), così come il gradiente massimo ecocardiografico ed il gradiente picco-picco emodinamico ( $k=0.8$ ;  $p<0.0001$ ).

## **2F.PROCEDURA BIOPTICA**

Nei pazienti sottoposti a sostituzione valvolare aortica chirurgica, salvo differenti controindicazioni (tecniche o anestesiolgiche), è stata praticata biopsia del setto interventricolare basale. La metodica viene di seguito brevemente descritta da referto chirurgico.

*Dopo clampaggio aortico, effettuata un'aortotomia obliqua, vengono posizionate suture di trazione sui lembi dell'aortotomia per migliorarne l'esposizione. Resecate le cuspidi valvolari aortiche, una volta rimossi i residui di calcio anulari, il setto ipertrofico basale (versante sinistro) si osserva inferiormente alla coronaria destra. Con una sutura di trazione viene esposta la porzione di setto su cui effettuare il prelievo: questa viene poi escissa mediante una piccola lama da bisturi a pancetta (n°15) e conservata in soluzione di formaldeide al 4%.*

## **2G.PROCEDURA ANALISI TISSUTALE**

I frammenti di setto (30-80 g) sono stati fissati in formalina 4% e successivamente inclusi in paraffina. Da ciascuna inclusione, sono state eseguite due sezioni (circa 5 micron) di cui una colorata con Ematossilina ed Eosina ed una con tecnica istochimica Tricromica di Masson per il tessuto connettivo. La valutazione della fibrosi sostitutiva miocardica è stata calcolata come rapporto percentuale della superficie (espressa in  $\mu\text{m}^2$ ) di tessuto connettivo sul totale di superficie di miocardio.(70, 137, 138)

Il calcolo è stato effettuato mediante strumento ottico dedicato digitalizzato ad alta risoluzione ed a colori (PALM MicroBeam, Carl Zeiss). La calibrazione è stata settata al diametro degli eritrociti (7 micron). Tutte le misure sono state effettuate da due patologi esperti, senza conoscere i dati clinici dei pazienti (coefficiente di correlazione intra ed inter-operatore rispettivamente 0.9 e 0.94 su 5 campioni casuali).



## **2H.DOSAGGIO DEL miRNA21**

### **Raccolta dei campioni ematici**

I campioni ematici sono raccolti in provette per RNA contenenti un reagente che lisa le cellule ematiche e stabilizza rapidamente l'RNA intracellulare, riducendone la degradazione e preservandone il profilo di espressione genica. Dopo raccolta le provette vengono depositate per 20-24 ore a temperatura ambiente prima di essere congelate a -80°.

### **Estrazione del miRNA ed analisi dell'espressione**

Le specie di miRNA, stabilizzate con kit dedicato (che consente di identificare campioni di RNA purificato maggiori di 18 nucleotidi, miRNA inclusi), vengono analizzate mediante trascrizione inversa quantitativa. Il DNA copia generato viene usato per la reazione a catena della polimerasi (RCP), con primers per il miRNA 21. Dopo circa 40 cicli, di durata e temperatura variabile, viene generata una curva (al diminuire della temperatura) e misurata la fluorescenza. I campioni vengono identificati in doppio e le espressioni relative vengono valutate rispetto ad un controllo endogeno (small nuclear RNA).

## **2I.ANALISI STATISTICA**

I dati continui sono descritti in termini di media e deviazione standard (SD). I dati categorici sono riportati come tassi o percentuali.

E' stata valutata la normalità dei parametri saggiati mediante Test di Kolmogorov-Smirnov.

Per valutare il grado di Correlazione tra differenti parametri analizzati è stata valutata la r (distribuzione normale) o il coefficiente di correlazione di Spearman ( $r^*$ ) in caso di parametri distribuiti non normalmente. Sono stati tracciati i relativi diagrammi di dispersione (Correlation plot). E' stata considerata significativa una correlazione con  $p < 0.05$ .

E' stata inoltre valutata la concordanza (k) o il coefficiente di correlazione intra ed inter-operatore (Bland Altman) per misurazioni analoghe eseguite con differenti metodiche (ecocardiografia; cateterismo). Sono state considerate affidabili misurazioni con  $p < 0.05$ .

Per valutare la capacità di alcuni parametri in studio di classificare correttamente pazienti con NYHA avanzata o scompenso cardiaco rispetto a pazienti in soddisfacente compenso clinico (NYHA < 2), è stata effettuata una analisi di statistica-C per la stima dell'area sotto la curva (Receiver operating characteristic curve, ROC).

Al fine di discriminare i determinanti di alcuni tra gli indici di deformazione miocardica valutati nello studio, è stata effettuata un'analisi di regressione univariata e multivariata (stepwise). Per l'analisi multivariata, sono stati utilizzati predittori con  $p < 0.10$  in analisi univariata.

Tutte le elaborazioni sono state eseguite con software statistico computerizzato dedicato (Medcalc 12.7; Medcalc Software 2013, Belgium).

### 3.RISULTATI

Le caratteristiche della popolazione sono riassunte in Tabelle 3-11.

**Tabella 3-Caratteristiche generali della popolazione**

	Mean	SD
ETA' (anni)	75,278	8,0662
BSA (Mosteller;m <sup>2</sup> )	1,861	0,1760
Log EUROSCORE %	5,995	4,1794
EUROSCORE II %	2,286	1,1310
PAS (mmHg)	139,111	19,0004
PAD (mmHg)	71,333	10,0399
FC (bpm)	73,500	11,9224

**Tabella 6-Parametri di severità della vavulopatia (Ecocardiografia)**

	Mean	SD
AVAi (cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )	0,333	0,09857
G max (mmHg)	80,234	16,7617
G med (mmHg)	49,747	10,6773
PICCO PICCO (mmHg)	58,364	15,4073
V-Ratio	0,189	0,04595
Vmax (m/sec)	4,463	0,4453

**Tabella 4-Dati laboratoristici popolazione**

	Mean	SD
BNP (pg/ml)	250,967	220,4772
GFR (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	70,856	28,4459
TROPONINA-hs (ng/ml)	30,424	26,8829
miRNA21	5,845	7,1976

**Tabella 7-Parametri di funzione diastolica**

	Mean	SD
EDPi (mmHg)	15,810	6,8163
LAVi(ml/m <sup>2</sup> )	43,685	14,0506
E/A	0,815	0,3373
E/E' Average	18,061	8,2945
DT (msec)	251,250	91,2549

**Tabella 5-Indici emodinamici non invasivi**

	Mean	SD
SV VTli (ml/m <sup>2</sup> )	35,564	10,0863
CI (l/min/m <sup>2</sup> )	2,585	0,7282
CO (l/min)	4,810	1,4591
Z <sub>VA</sub> VTI (mmHg/ml/m <sup>2</sup> )	5,9	1,2695

**Tabella 8-Indici di funzione sistolica convenzionali e TDI**

	Mean	SD
FE%	65,865	10,9420
FS%	36,437	7,8995
MAPSE (mm)	9,553	1,8443
S' I (cm/s)	6,409	1,5062
S's(cm/s)	5,606	1,4980

**Tabella 9-Indici dimensionali e di rimodellamento ventricolari sinistri e di funzione destra**

	Mean	SD
EDDi(cm/m <sup>2</sup> )	2,526	0,2556
EDVi (ml/m <sup>2</sup> )	50,282	12,9526
ESDi (cm)	1,713	0,3026
ESVi (ml/m <sup>2</sup> )	17,479	8,5573
LVMi (g/m <sup>2</sup> )	139,5	22,5837
SIVd (cm)	1,286	0,1150
M/V ratio (g/ml)	2,648	0,6379
RWT	0,510	0,07872
PAPs (mmHg)	30,833	6,4609
TAPSE (cm)	2,308	3,2462

**Tabella 10-Parametri di analisi Speckle tracking**

	Mean	SD
E/GLSrE (cm)	75,180	45,4490
GLSrS (1/sec)	-0,81	0,2622
GLSrE (1/sec)	1,099	0,3508
GLS%	-13,057	6,1185

**Tabella 11-Dati Speckle tracking ed istologia (settale)**

	Mean	SD
SrSs (1/sec)	0,607	0,2938
SLs (%)	-8,655	2,8197
SrEs (1/sec)	-0,609	0,1386
% FIBROSI (n.15)	0,151	0,09651

In linea con le casistiche esistenti in letteratura, i pazienti con stenosi valvolare aortica severa (AVAi media 0.33 +/- 0.1 cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>; V max 4.4 +/- 0.4 m/sec; G Max 80.2 +/- 16.7 mmHg; G Med 50 +/- 9 mmHg; Peak-to-Peak 58.3 +/- 15 mmHg; V-R 0.18 +/- 0.04) hanno presentato:

- Valori di massa ventricolare sinistra indicizzata incrementati: 139.5 +/- 20.7 g/m<sup>2</sup> (cut-off per ipertrofia >115 g/m<sup>2</sup> M; 95 g/m<sup>2</sup> F).
- Ipertrofia ventricolare sinistra di tipo concentrico nella totalità dei casi valutati: RWT 0.51 +/- 0.07 (cut-off >0.42).
- Disfunzione diastolica (di qualsiasi grado), in tutti i pazienti: Stadio I 90% (E/A 0.8 +/- 0.3; DT 247 +/- 93 msec), con un pattern di tipo III (E/A >1.5; DT <130 msec) nel 10% dei casi.
- Tendenziale incremento delle pressioni di riempimento ventricolari sinistre: E/E' 18.37 +/- 8.7 (cut-off 15).

- Dilatazione atriale sinistra, con Volume atriale sinistro indicizzato (LAVi): 48.2 +/- 12.6 ml/m<sup>2</sup> (cut-off 34 ml/m<sup>2</sup>).

Per quanto concerne gli indici convenzionali di funzione sistolica ventricolare sinistra, i pazienti hanno mostrato:

- Frazione di eiezione ventricolare sinistra (Simpson/Teicholz) preservata: 66 +/- 11% (v.n. FE>50/55%).
- Frazione di accorciamento ventricolare sinistro nei limiti: 36 +/- 7.8% (v.n.>28%).

In accordo con i dati già esistenti in letteratura, una stima della funzione sistolica, in particolare della componente longitudinale, mediante indici più sensibili (MAPSE; TDI; 2D-STI) ha invece rilevato una significativa riduzione dei principali parametri valutati:

- MAPSE: 9.5 +/- 1.8 (v.n. >15 mm)
- S's: 5.6 +/- 1.4 (v.n.8 cm/sec)
- S'l: 6.4 +/- 1.5 (v.n.10 cm/sec)
- GLS: -13 +/- 6.1 (v.n.>-18.6 +/- 0.1%)
- GLSrS: -0.8 +/- 0.2 (v.n.1.10 +/- 0.01 1/sec)
- GLSrE: 1 +/- 0.35 (v.n. 1.55 +/- 0.01 1/sec)

Per quanto concerne la valutazione speckle-tracking a livello del setto basale, questa ha mostrato un'ancor più marcata riduzione di tutti gli indici di deformazione miocardica:

- SLs: -8.6 +/- 2.8 (v.n.-13.7 +/- 4 %)
- SrSs: -0,6 +/- 0.1 (v.n.-1 +/- 0.21 1/sec)
- SrEs: 0.6 +/- 0.29 (v.n.-1.3 +/- 0.21 1/sec)

Nessun paziente ha inoltre mostrato segni di disfunzione sistolica ventricolare destra (TAPSE: 1.7 +/- 0.3 cm) o grado ipertensione polmonare stimato ecocardiograficamente superiore a lieve (PAPs 30 +/- 6 mmHg).

Sono inoltre stati riscontrati elevati valori di impedenza-valvulo-arteriosa ( $Z_{VA}$ ):  $5.9 \pm 1.3 \text{ mmHg/ml/m}^2$  (v.n. $<3.5 \text{ mmHg/ml/m}^2$ ).

Mediante Analisi di Correlazione (Tabella 12) è emerso:

- Lo SV-VTI ha mostrato correlazione inversa con  $Z_{VA}$  ( $r=-0.9^*$ ;  $p < 0.0001$ ) e diretta con AVAi ( $r=0.79^*$ ;  $p < 0.0001$ ).
- La massa non ha mostrato correlazione significativa (all  $p > 0.05$ ) con gli indici emodinamici di severità della stenosi (AVAi; Gmed; G max; Picco-picco invasivo; V max; V-R) o la  $Z_{VA}$ .
- La presenza di una correlazione diretta tra GLS e SV-VTI: ( $r=0.66^*$ ;  $p=0,0002$ ). (Una correlazione meno stringente è emersa tra MAPSE e SV-VTI:  $r=0.4^*$ ;  $p=0.01$ /Nessuna correlazione è emersa invece tra S's/S'l e SV-VTI;  $p > 0.05$ ).
- Una correlazione inversa tra LVMi, RWT, AVAi,  $Z_{VA}$  e GLS: rispettivamente ( $r=-0.64^*$ ;  $p=0.001$ ); ( $r=-0.45$ ;  $p= 0.03$ ); ( $r=-0.5^*$ ;  $p 0.003$ ); ( $r=-0.52$ ;  $p=0.002$ ). L'AVAi ha mostrato una debole correlazione ( $r=-0.33^*$ ;  $p=0.05$ ) con la FE.
- La presenza di una discreta correlazione tra MAPSE, S's e GLS: ( $r=0.51$ ;  $p=0.0003$ ); ( $r=0.45^*$ ;  $p=0.0005$ ).
- Una limitata correlazione tra FE e GLS ( $r=0.44^*$ ;  $p=0.05$ ).
- Una correlazione tra GLSrE e pressione telediastolica invasiva: ( $r=-0.52^*$ ;  $p=0.02$ ).
- Una correlazione inversa tra RWT e GLSrE: ( $r=-0.57$ ;  $p=0.0007$ ).
- Il rapporto E/GLSrE ha mostrato di correlare significativamente con il RWT ( $r=-0.5$ ;  $p=0.03$ ) ed il rapporto E/E' ( $r=0.66$ ;  $p < 0.00001$ ).

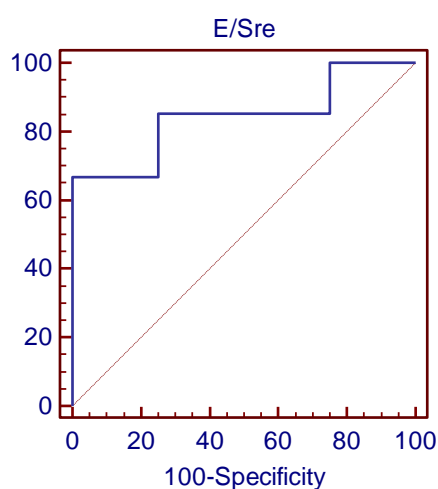
**Tabella 12-Correlation Matrix Table (General population): includente coefficiente di correlazione e significatività statistica**

		SV VTi	Z <sub>VA</sub>	LV MASS i	AVAi	GLS	Vmax	RWT	G med
SV VTi	Correlation Coefficient Significance Level P		<b>-0,9*</b> <b>&lt;0,0001</b>	N.A.	<b>0,795*</b> <b>&lt;0,0001</b>	<b>0,66*</b> <b>0,002</b>	N.A.	N.A.	N.A.
Z <sub>VA</sub>	Correlation Coefficient Significance Level P	<b>-0,9*</b> <b>&lt;0,0001</b>		-0,013 0,9410	N.A.	<b>-0,52</b> <b>0,002</b>	N.A.	0,418 0,0101	N.A.
LV MASS i	Correlation Coefficient Significance Level P	N.A.	-0,013 0,9410		0,031 0,8554	<b>-0,64*</b> <b>0,001</b>	0,040 0,8119	N.A.	0,125 0,4599
AVAi	Correlation Coefficient Significance Level P	<b>0,795*</b> <b>&lt;0,0001</b>	N.A.	0,031 0,8554		<b>-0,5*</b> <b>0,003</b>	N.A.	-0,282 0,0910 37	N.A.
GLS	Correlation Coefficient Significance Level P	<b>0,66*</b> <b>0,002</b>	<b>-0,52</b> <b>0,002</b>	<b>-0,64*</b> <b>0,001</b>	<b>-0,5*</b> <b>0,003</b>		-0,001 0,9974	<b>-0,45</b> <b>0,0329</b>	-0,012 0,9450
Vmax	Correlation Coefficient Significance Level P	N.A.	N.A.	0,040 0,8119	N.A.	-0,001 0,9974		N.A.	0,938 <0,0001
RWT	Correlation Coefficient Significance Level P	N.A.	0,418 0,0101	N.A.	-0,282 0,0910 37	<b>-0,45</b> <b>0,0329</b>	N.A.		0,189 0,2630
G med	Correlation Coefficient Significance Level P	N.A.	N.A.	0,125 0,4599	N.A.	-0,012 0,9450	0,938 <0,0001	0,189 0,2630	

*Pearson/Spearmann\* correlation coefficient (according to normal/parametric distribution); N.A: not assessed*

Nella popolazione generale, il GLS ha mostrato una correlazione tanto con il principale indicatore biumorale di scompenso valutato nello studio (Log BNP: r=0.48; p=0.02) che una buona capacità di discriminare pazienti con classe funzionale NYHA avanzata (>/=2) (AUC 0.7; p=0.03; per GLS <-14,7%), al contrario di FE, MAPSE e parametri sistolici al TDI (p ns).

Il rapporto E/GLSrE (AUC 0.81; p<0,0001 per valori>64,4 cm) ha dimostrato un potere discriminante ancora superiore nell'identificare pazienti con classe NYHA avanzata.(Figura 2)



**Figura 2-ROC curve: potere discriminante del rapporto E/GLSrE (E/Sre, cm) per pazienti con sintomatologia clinica di scompenso avanzato o meno (AUC 0.81;  $p < 0,0001$  per valori  $> 64,4$  cm).**

Tutti gli altri principali parametri testati, inclusi indici emodinamici (AVAi, V-R, V max, Gradienti trans-valvolari,  $Z_{VA}$ , E/E') e di rimodellamento ventricolare (LVMi; RWT; M/V; FE; EDV; ESV), non hanno mostrato sufficiente potere discriminativo clinico né significativa correlazione con i dati biumorali (all  $p > 0,05$ ).

Nella popolazione generale, nel modello di regressione multivariato (approccio Stepwise), il GLS (Multiple R=0.65;  $p=0.0001$ ) (Tabella 13) è risultato dipendente da LVMi ( $p < 0.001$ ),  $Z_{VA}$  ( $p=0.005$ ) e filtrato glomerulare ( $p=0.002$ ) [in analisi univariata: Età  $p=0.0027$ ; GFR  $p=0.0009$ ;  $Z_{VA}$   $p=0.0012$ ; SIVd 0,032; AVAi 0,0226; LVMi=0.001]. La FE (Multiple R=0.76;  $p < 0.0001$ ) da AVAi ( $p < 0.0001$ ) e V-R ( $p=0.001$ ) [in analisi univariata:  $Z_{VA}$   $p=0.0085$ ; V-R  $p=0.0013$ ; AVAi=0.0166] mentre il CO (Multiple R 0.96;  $p=0.002$ ) da AVAi ( $p=0.001$ ), G med ( $p=0.002$ ) e GLS ( $p=0.045$ ) [in analisi univariata: GLS  $p=0.03$ ; Gmed  $p=0.0013$ ; AVAi=0.0066; Gmax  $p=0.04$ ].



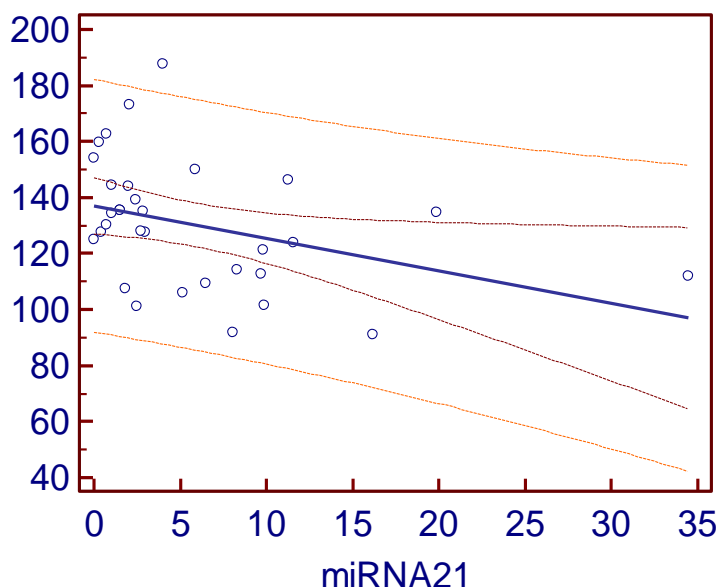
**Tabella 13-Analisi di regressione multivariata-approccio stepwise: predittori indipendenti del GLS % (popolazione generale). (Multiple R 0.67; p<0.0001).**

Independent variables	Coefficient	Std. Error	$r_{\text{partial}}$	t	P
GFR (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	-0,04161	0,01230	-0,5074	-3,382	0,0019
Z <sub>VA</sub> (mmHg/ml/m <sup>2</sup> )	0,5071	0,1542	0,4968	3,289	0,0024
LVMi (g/m <sup>2</sup> )	0,08027	0,01637	0,6435	4,902	<0,0001

### miRNA21

E' emersa una correlazione inversa ( $r=-0.46^*$ ;  $p=0.0078$ ) tra livelli di espressione relativa del miRNA21 plasmatico (31 pazienti disponibili) e valori massa ventricolare sinistra indicizzata (LVMi g/m<sup>2</sup>). (Figura 3)

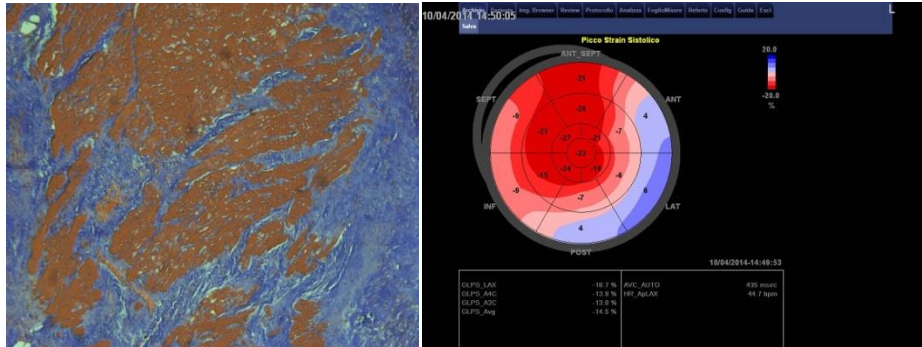
Nessuna correlazione è invece emersa con gli altri indici, inclusi quelli di funzione ventricolare sinistra o parametri emodinamici (all  $p>0.05$ ).



**Figura3-Diagramma di dispersione (correlation plot) tra miRNA21 (n.31) e Massa ventricolare sinistra indicizzata (LVMi) ( $r=-0.46$ ;  $p=0.007$ ; con IC e Predizione al 95%).**

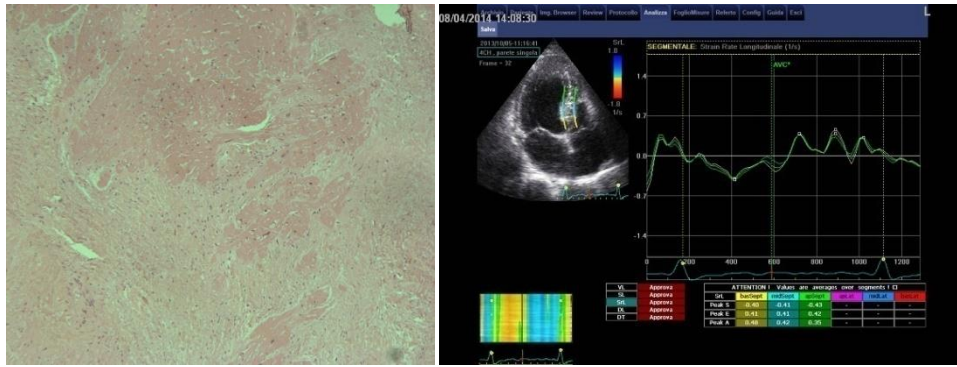
## Confronto speckle-tracking tessuto

In ogni preparato istologico (n=15), la principale caratteristica tissutale è risultata la presenza di abbondante fibrosi sostitutiva ed interstiziale, a circondare isolati o piccoli gruppi di miociti. (Figura 4, A-C)



A

B



C

D

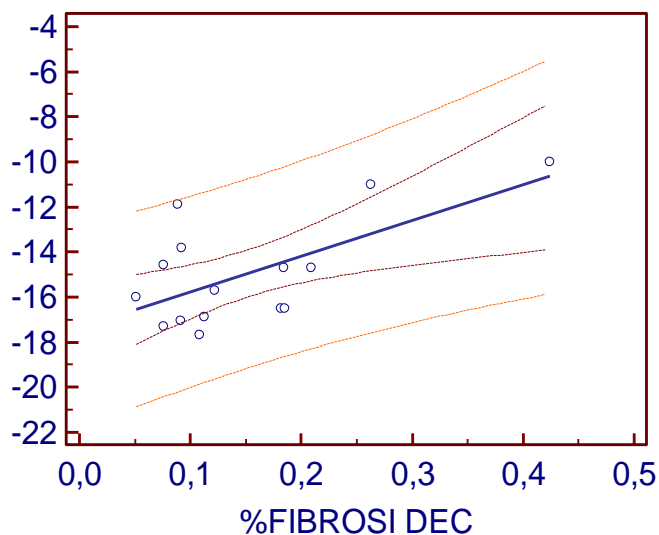
**Figura 4-(A-D) Confronto istologia speckle-tracking echo.** Per uno stesso paziente, N.G., n. 7, vengono mostrati preparati istologici (Tricromica di Masson, A; Ematossilina-Eosina, C), Bull's eye con valore di Global longitudinal strain % (B) ed analisi segmentaria settale con valori di strain rate settale sistolico e proto-diastolico (SrSs e SrEs) (D).

Per quanto riguarda il confronto con il tessuto, la percentuale di fibrosi ha mostrato (Figura 4-B-D):

- Nessuna correlazione con i parametri di funzione sistolica convenzionale e TDI (all  $p>0.05$ ).
- Una correlazione ( $r=0.55^*$ ;  $p=0.05$ ) con la pressione telediastolica ventricolare sinistra invasiva.
- Una correlazione inversa con il CO ( $r=-0.5$ ;  $p=0.05$ ).
- Una limitata correlazione con G max ( $r=0.32$ ;  $p=0.05$ ) e V max ( $r=0.28$ ;  $p=0.05$ )

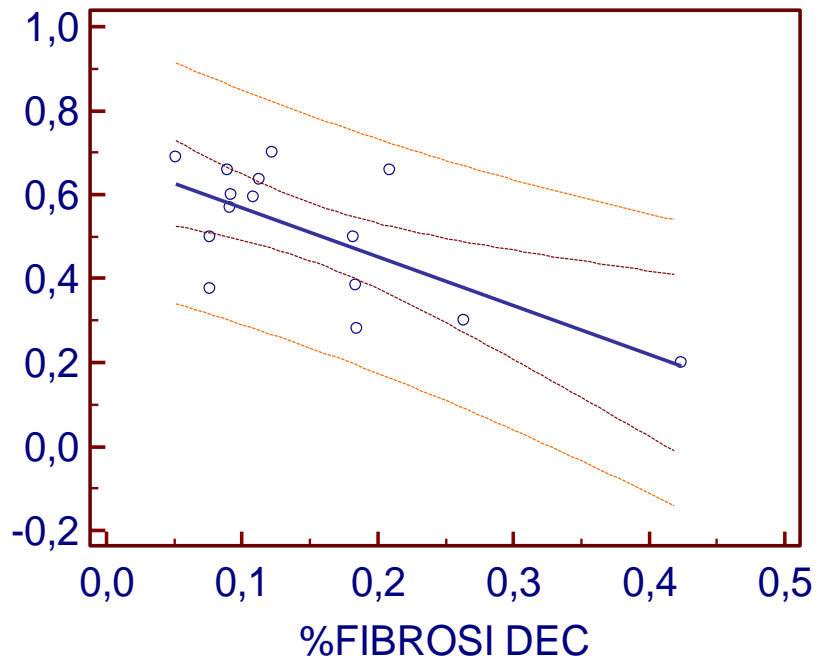
Limitatamente ai parametri di deformazione miocardica:

- Una correlazione inversa con il GLS ( $r=0.66$ ;  $p=0.012$ ). Nessuna correlazione con lo SLs ( $p>0.05$ ). (Figura 5)

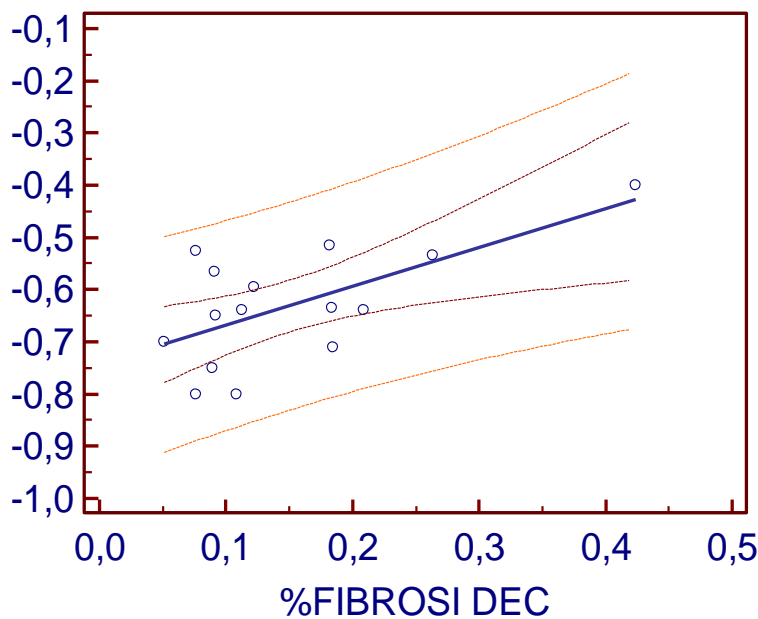


**Figura 5**-Diagramma di dispersione (correlation plot) (n.15): GLS (Mean GL GE-Global longitudinal strain, %) e % di fibrosi settale ( $r=0.66$ ;  $p=0.012$ ; con IC e Predizione al 95%).

- Una stretta correlazione inversa ( $r=-0.74$ ;  $p=0.008$ ) con lo SrEs e SrSs ( $r=0.64^*$ ;  $p=0.010$ ). (Figure 6 e 7)



**Figura 6**-Diagramma di dispersione (correlation plot) (n.15): SrEs (strain rate settale proto-diastolico, 1/sec) e % fibrosi ( $r=-0.74$ ;  $p=0.008$ ; con IC e Predizione al 95%).



**Figura 7**-Diagramma di dispersione (correlation plot) (n.15): SrSs (strain rate settale sistolico, 1/sec) e % fibrosi ( $r=0.64$ ;  $p=0.010$ ; con IC e Predizione al 95%).

La % di fibrosi è risultata in grado di discriminare accuratamente pazienti con classe NYHA avanzata (AUC 0.81;  $p=0.012$  per valori  $< 0,088$ ).

La valutazione mediante analisi di regressione uni e multivariata (stepwise) nel gruppo di pazienti (n.15) sottoposto a biopsia ha infine mostrato:

- La dipendenza sia in analisi univariata che multivariata (Multiple  $R=0.86$ ;  $p<0.0001$ ) del GLS da LVMi ( $p=0.045$ ), % di fibrosi ( $p=0.0008$ ) e filtrato glomerulare ( $p=0.01$ ) (Tabella 14).
- Avendo lo SrSs come variabile dipendente (Multiple  $R=0.75$ ;  $p=0.0008$ ; analoghi predittori rispetto al global strain), l'influenza % di fibrosi ( $p=0.0009$ ) e G med ( $p=0.007$ ).
- Lo SrEs è risultato dipendente unicamente dalla % di fibrosi (Multiple  $R=0.78$ ;  $p=0.0008$ ).
- La  $Z_{VA}$  è risultata invece l'unico determinante indipendente della frazione di eiezione (Multiple  $R=0,69$ ;  $p=0.0043$ ).

**Tabella 14-Analisi di regressione multivariata-approccio stepwise: predittori indipendenti del GLS % (sottogruppo biopsie tissutali-n.15). (Multiple R 0.86; p=0.001).**

Independent variables	Coefficient	Std. Error	$r_{\text{partial}}$	t	P
% FIBROSI	0,2174	0,06726	0,6978	3,231	0,0080
LVMi (g/m <sup>2</sup> )	0,02709	0,01201	0,5625	2,256	0,0454
GFR (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	-0,02832	0,01034	-0,6368	-2,739	0,0193

Per quanto riguarda la % di fibrosi tissutale, in analisi di regressione multivariata unico determinante indipendente è risultato la  $Z_{VA}$  (Multiple R 0.74; p=0.002), mentre per la pressione telediastolica ventricolare sinistra la percentuale di fibrosi (Multiple R 0.75; p=0.04).

La % di fibrosi si è invece dimostrata un determinante indipendente del CO solo in analisi univariata, ma non multivariata (p=0.08).

## 4.DISCUSSIONE

### **Limitazioni delle metodiche impiegate nello studio della funzione sistolica ventricolare sinistra nella stenosi aortica**

La valutazione mediante speckle-tracking-imaging dello strain longitudinale, dello strain rate sistolico e dello strain rate proto-diastolico è molto accurata nella definizione della funzione miocardica globale e regionale.(119)

In questo studio, abbiamo principalmente voluto valutare l'associazione esistente tra parametri di deformazione miocardica, in particolare a livello settale, e rilievi istopatologici in vivo (n.15) in una coorte di pazienti (n.36) con stenosi valvolare aortica severa e frazione di eiezione preservata, sottoposti a cardiocirurgia.

La sostituzione valvolare aortica è ad oggi raccomandata (Classe I-A) in pazienti con stenosi severa sintomatica, associata o meno a disfunzione ventricolare sinistra (valutata solo in termini di FE<50%) e la frazione di eiezione rimane l'indice considerato avere il maggiore peso prognostico.

Tuttavia, in un contesto di FE preservata, il parametro ha, per ovvi motivi, una limitata capacità di stratificare adeguatamente i pazienti.

Infatti, lo stroke volume è il risultato di accorciamento longitudinale, ispessimento radiale ed accorciamento circonferenziale. In particolare, l'ispessimento radiale può per lungo tempo compensare lo sviluppo progressivo di fibrosi che, con l'ipertrofia ventricolare, accompagna la storia naturale della valvulopatia.(139)

E' dimostrato infatti come la frazione di eiezione si riduca solo in stadi avanzati di malattia, con il netto calo della funzione longitudinale e la progressiva riduzione del compenso radiale.

In linea con questi concetti, alcuni recenti lavori hanno "provocatoriamente" prospettato l'utilità della sostituzione valvolare aortica nel paziente asintomatico o paucisintomatico, in una fase di verosimile limitata compromissione contrattile, allo scopo di migliorarne l'outcome a lungo termine.(19)

Considerati inoltre gli attuali ridotti rischi connessi all'intervento (mortalità complessiva del 3%) e l'avvento di nuove procedure mini-invasive o percutanee, ipotizzare strategie invasive precoci può essere corretto.

L'attesa dei sintomi può infatti risultare impropria, poichè la loro comparsa identifica il probabile esaurirsi di meccanismi di compenso cronici e l'instaurarsi di alterazioni strutturali ed ultrastrutturali a volte definitive.(57)

I pazienti sintomatici presentano, ad esempio, una compromissione della deformazione miocardica più marcata rispetto agli asintomatici.

L'esame ecocardiografico è in grado di identificare precoci alterazioni della funzione diastolica ventricolare sinistra (Doppler Pulsato, PW; TDI), prima dei sintomi, ma queste possono essere il risultato di modifiche della matrice extra-cellulare ormai consolidate e difficilmente reversibili.

E' dunque necessario mutuare dalla comprensione dei meccanismi fisiopatologici, cellulari, molecolari ed ultrastrutturali, un nuovo approccio, che rettifichi l'attuale modalità di gestione clinica della patologia valvolare aortica.

Il cambio di paradigma deve portare il clinico a concentrare le proprie attenzioni non soltanto sulla valvola, ma sul tessuto miocardico e le sue alterazioni contrattili. Per fare questo, occorrono indici oggettivi, in modo da affiancare o in un futuro prossimo implementare i parametri attualmente in uso.(114)

Introdurre nella pratica clinica nuovi e solidi marcatori bioumorali e/o strumentali, utili ad identificare le alterazioni sub-cliniche più precoci e che riflettano più da vicino questo processo, è perciò importante.

Vi è un crescente numero di evidenze riguardo al fatto che la disfunzione miocardica regionale precorra le alterazioni strutturali macroscopiche ed abbia importante correlato prognostico prima e dopo sostituzione valvolare aortica.(70, 138)

Abbiamo perciò voluto valutare l'associazione tra meccanica regionale miocardica sisto-diastolica e tessuto *ex-vivo*. L'analisi settale si è dunque concentrata non tanto sullo strain, ma principalmente sui parametri di strain-rate (picco sistolico e proto-diastolico).

La decisione di valutare tali parametri, in particolare lo strain rate, è dovuta alla dimostrata correlazione tra parametri sistolici e contrattilità miocardica regionale e fra indici diastolici, funzione diastolica e struttura miocardica, ritenendo che la fibrosi eserciti un effetto negativo sulla deformazione miocardica durante tutto il ciclo cardiaco più che isolatamente durante la sistole (picco sistolico di strain longitudinale).



## **Analisi tissutale, ruolo diagnostico e potenziale impiego dello speckle tracking**

In recenti studi di confronto con biopsie in vivo di pazienti con cardiomiopatia ipertrofica sottoposti a miectomia, lo strain longitudinale settale (140) è risultato correlare con la fibrosi totale ed interstiziale ( $r=-0.5$  e  $-0.4$ , rispettivamente;  $p<0.0001$ ). Il parametro ha dimostrato inoltre di essere, assieme alla fibrosi interstiziale, un predittore indipendente da età e sesso di aritmie ventricolari, superiore alla valutazione della fibrosi effettuata mediante risonanza magnetica.

Ancora recentemente, un ampio studio (136) condotto *in vivo* su pazienti consecutivi sottoposti a miectomia secondo Morrow (cardiomiopatia ipertrofica) ha evidenziato una correlazione inversa tra strain-rate longitudinale sistolico e proto-diastolico e grado di ipertrofia dei miociti, disarray e fibrosi interstiziale, al contrario di strain longitudinale settale e parametri ecocardiografici convenzionali, inclusi quelli TDI.

In analisi multivariata, il disarray e l'ipertrofia settale sono risultati determinanti dello strain rate settale.

Anche nel nostro studio, non è stata ad esempio rilevata alcuna significativa associazione tra grado di fibrosi, strain longitudinale settale e parametri ecocardiografici standard.

Nella nostra popolazione, in cui i pazienti si presentavano ad uno stadio relativamente "precoce" di malattia (per quanto riguarda la stima abituale della funzione sistolica), è risultato ancora una volta evidente quanto la frazione di eiezione sia limitata per capacità di stimare la reale compromissione contrattile miocardica dei pazienti e, in analogia alle numerose casistiche già esistenti in letteratura, quanto invece gli indici di deformazione miocardica indichino una notevole, precoce, compromissione della meccanica longitudinale.

Peraltro, la FE ha dimostrato di possedere una significativa correlazione inversa solo con indici di post-carico ( $AVA_i$ ,  $G_{max}$ ,  $Z_{VA}$ ), mentre nessuna correlazione è emersa con la percentuale di fibrosi tissutale. Questo non sorprende, poiché la FE non rispecchia quelle che sono le caratteristiche tissutali e l'inotropismo, ma solo variazioni macroscopiche di geometria ventricolare (indice geometrico di rimodellamento), nonostante la fibrosi, anche in questa casistica, condizioni tanto la

portata cardiaca (ma soprattutto la pressione tele-diastolica ventricolare sinistra) e sia correlata alla severità della sintomatologia clinica.

Occorre comunque ricordare che solo la fibrosi diffusa si associa ad una FE compromessa: è quindi ragionevole, nel presente contesto, non avere individuato un significativo legame con la frazione di eiezione.

La dipendenza della FE dal post-carico (AVA;  $Z_{VA}$ ) rispecchia il fatto che, malgrado questa possa migliorare dopo intervento (risoluzione dell'after-load), ciò non si accompagna necessariamente ad un miglioramento clinico o prognostico, non legandosi a riduzione della componente fibrotica (disfunzione diastolica; aritmie). Una ridotta FE può dunque essere semplicemente frutto dell'after-load mismatch (e come tale risolvibile con la sostituzione valvolare) ma più frequentemente di un deficit contrattile (diffuso) difficilmente reversibile.

Nella nostra popolazione, ad esempio, pur in presenza di una FE preservata è emersa la presenza di un correlato patologico di malattia tardiva e sfavorevole quale la fibrosi miocardica sostitutiva.

Inoltre, nessuna relazione significativa è emersa tra massa miocardica e parametri di severità emodinamica, inclusa l'AVAi.

Ritenere lineare la relazione tra fibrosi miocardica ed FE, riduzione di AVA ed aumento dei gradienti trans-valvolari può risultare fallace.(58, 65)

Ancora di più se si considera che nei pazienti con stenosi aortica, il grado di ipertrofia è solo marginalmente legato alla severità dell'ostruzione, come emerso in studi di ecocardiografia e più recentemente di risonanza, dove nessuna correlazione significativa è risultata emergere tra velocità di picco e massa indicizzata.(21, 141, 142)

Sorprende dunque come molto dell'atteggiamento oggi impiegato nella valutazione dei pazienti con stenosi aortica, sia limitato all'analisi di parametri che sono scarsamente connessi tanto con la sintomatologia clinica che con le alterazioni strutturali e tissutali.

Indici più sensibili, come il MAPSE o parametri sistolici al TDI, risultano già ridotti in questo contesto, poiché riflettono più da vicino la funzione longitudinale, che risulta depressa, nonostante valori di FE pressochè nei limiti.

Fino ad un terzo dei pazienti con stenosi aortica asintomatica arruolati nel SEAS (143) presentano disfunzione miocardica longitudinale. La valutazione della funzione longitudinale è quindi probabilmente utile nell'identificazione delle alterazioni contrattili alla base della stenosi aortica severa.(144)

Il MAPSE è già in grado di identificare le conseguenze della fibrosi e di predire il miglioramento funzionale dopo intervento di sostituzione valvolare aortica, in maniera superiore rispetto alla FE.(138)

Gli indici di deformazione miocardica, più recentemente, hanno dimostrato di essere superiori nella definizione dei sintomi, della tolleranza allo sforzo e nella definizione dell'outcome in questi pazienti.(102, 145)

Un lavoro sperimentale (146) ha dimostrato che un incremento protratto del post-carico indotto dal bendaggio aortico determina lo sviluppo di ipertrofia e fibrosi miocardica, esitando in una marcata riduzione della deformazione miocardica stessa. Queste alterazioni mostravano stretta correlazione con la deformazione miocardica mentre il picco di strain rate sistolico (derivato dal TDI) correleva meglio con l'estensione trans-murale della fibrosi.

Tuttavia, malgrado la riduzione degli indici di funzione longitudinale riscontrata nella nostra casistica, in accordo con le evidenze già presenti in letteratura, nessuno di questi ha dimostrato una significativa correlazione con il grado di fibrosi tissutale o la capacità di discriminare accuratamente i pazienti della casistica sulla base dei sintomi clinici. Peraltro, solo il MAPSE ha dimostrato una discreta relazione con lo stroke volume ma risulta essere un parametro limitato dalla mono-dimensionalità (e globalità) ed il TDI, come noto, soffre dei numerosi limiti legati alla metodica Doppler.

Lo Speckle-tracking, per la sue peculiarità fisiche, affidabilità, validazione con modelli in vivo ed in vitro nonché risonanza magnetica (tagging), si è in tal senso già posto come metodica d'elezione per tale tipo di valutazioni.

Il GLS, notevolmente compromesso nella nostra popolazione rispetto al range di normalità (ciò in evidente accordo con le casistiche in letteratura, al pari degli altri indici di deformazione qui valutati) ha mostrato di ritenere nel nostro studio:

- Una correlazione diretta con lo stroke volume, oltre che il ruolo di determinante indipendente in analisi multivariata del cardiac output.
- Una correlazione inversa con la fibrosi miocardica sostitutiva (tessuto).
- Una correlazione inversa con il rimodellamento ipertrofico di tipo concentrico (LVMi; RWT).
- Una correlazione inversa con le varie componenti dell'after-load ventricolare sinistro, incluse AVAi e  $Z_{VA}$ , anche in analisi multivariata.
- Un significativo potere di stratificare i pazienti con stenosi aortica (classe NYHA) e di correlare con i parametri bioumorali.

In particolare, la correlazione con la frazione di eiezione è risultata limitata, come scarsa con gli altri indici di funzione sistolica, a sottolineare il ruolo additivo (geometria di camera, LVMi ed afterload,  $Z_{VA}$ ) del parametro (con ricaduta prognostica) e la sua potenzialità di rilevare meccanismi fisiopatologici più sottili, "altri" (fibrosi) rispetto ai parametri convenzionali (con ricaduta diagnostica).

A conferma di questo, è noto che la compromissione degli indici di deformazione miocardica nei pazienti con stenosi aortica è superiore tanto rispetto ai controlli sani che ai soggetti con ipertrofia da altra causa (ipertesi), per il maggior grado di fibrosi cui questa si associa.(147)

Il GLS è già risultato in passato un predittore indipendente di mortalità in pazienti con stenosi aortica severa, tanto nel paziente sintomatico che asintomatico, ed ha un valore incrementale rispetto ai comuni parametri valutati nelle linee guida, siano essi i sintomi clinici, la FE o i parametri di severità emodinamica. In particolare, valori inferiori a -15% sono predittivi di una mortalità 30 volte maggiore per tutte le cause (102) ed un valore < di -15,9% di GLS essere un predittore significativo di eventi, inclusa morte, sostituzione valvolare aortica e sviluppo di sintomi.(148)

Nella nostra casistica, in linea con ciò, un valore simile (-14.7%) si è dimostrato capace di discriminare soggetti in classe funzionale più avanzata.

Il GLS si associa inversamente alla massa ventricolare sinistra indicizzata ed è influenzato dalla contrattilità dei miociti, dalla fibrosi e dalle caratteristiche pressione-volume ventricolari sinistre, incarnando probabilmente il marker ideale nei pazienti con stenosi aortica.

Il GLS riflette principalmente la meccanica dello strato sub-endocardico, ed è dunque il parametro più sensibile in presenza di disfunzione miocardica.

Gli strati medio e subepicardico sono legati maggiormente alla meccanica circonferenziale e radiale e contribuiscono a determinare la FE, ma sono meno suscettibili del danno dovuto al sovraccarico pressorio nella stenosi aortica.

Quindi, alterazioni del GLS identificano la disfunzione miocardica precoce mentre una ridotta FE riflette un processo trans-murale più tardivo.(123)

Vi è infatti una progressiva compromissione dei parametri multi-direzionali di deformazione miocardica all'aumentare della severità della stenosi valvolare aortica, a partire dalla disfunzione sub-endocardica nelle forme lievi, alla disfunzione medio-parietale nelle stenosi moderate a quella trans-murale nelle forme severe.

La valutazione dello strain rate proto-diastolico ha dimostrato di essere attendibile nella stima del grado di disfunzione diastolica associata all'ipertrofia concentrica ed alla fibrosi tissutale, cui consegue un aumento delle pressioni di riempimento.

In particolare, la recente introduzione nella pratica clinica del rapporto E/GLSrE ha dimostrato di essere associata ad aumentate pressioni di riempimento ventricolare ed a sfavorevoli correlati clinici. Questo è emerso anche nella presente casistica, dove il parametro ha dimostrato un'alta capacità di discriminare pazienti con classe NYHA avanzata.

Da notare l'influenza sulle componenti di deformazione miocardica del filtrato glomerulare, ad indicare un probabile ruolo pro-fibrotico esercitato dalla compromissione della funzione renale.

Per quello che riguarda il confronto con il tessuto settale, non esistono al momento in letteratura studi di confronto tra istologia settale (fibrosi) e parametri speckle-tracking bidimensionali, in pazienti con stenosi valvolare aortica severa.

La notevole riduzione degli indici di deformazione miocardica rilevata a livello settale riflette gli esiti del protratto post-carico e dello sviluppo di fibrosi che, come già enunciato, colpisce primariamente i segmenti basali miocardici ma influenza (come emerso anche dalle correlazioni rilevate nel presente studio) tanto la contrattilità (CO) che il riempimento ventricolare (pressione tele-diastolica invasiva). Considerate le strette correlazioni rilevate con i parametri di strain rate segmentari ed il GLS, malgrado il limitato numero di campioni, la possibilità che i parametri di

deformazione miocardica hanno di identificare la fibrosi tissutale e di correlare con la clinica dei pazienti, vista la loro rapidità di esecuzione, riproducibilità e facilità di uso, permette oggi di asserire che una loro alterazione, in un contesto fisiopatologico quale quello dei pazienti con stenosi aortica severa, non può che ulteriormente stratificare in senso negativo tali pazienti, rendendo ipotizzabili trattamenti, anche medici, più precoci.

Dopo sostituzione valvolare aortica, l'adattamento ventricolare (ridotto post-carico) si associa infatti ad un successivo miglioramento della performance contrattile, in presenza di FE sostanzialmente invariata, come attestato dal progressivo miglioramento degli indici di deformazione miocardica, legato ad probabilmente in una prima fase al miglioramento della perfusione, e, solo successivamente, alla graduale riduzione dell'ipertrofia ventricolare sinistra.(149, 150)

#### **miRNA21 e stenosi aortica severa**

In analogia con precedenti casistiche, i pazienti con stenosi valvolare aortica severa hanno mostrato elevati livelli di espressione del miRNA21 ed una significativa correlazione con la massa miocardica indicizzata. Sebbene un recente lavoro (93) abbia dimostrato una correlazione tra livelli di espressione plasmatica e tissutale di tale campione con il gradiente medio trans-valvolare e la fibrosi miocardica (espressione del marker solo su fibroblasti), le note limitazioni esistenti per gli indici emodinamici (flusso dipendenza, operatore dipendenza, variabilità delle condizioni emodinamiche) e la loro limitata correlazione con la massa miocardica, sottolineano un potenziale miglior nesso tra miRNA ed alterazioni strutturali miocardiche.

## 5.LIMITAZIONI

La numerosità del campione è il principale limite al potere statistico dello studio. Tuttavia, le significative correlazioni strumentali, cliniche ed istologiche rilevate, pur in un numero esiguo di pazienti, dimostrano l'utilità della metodica e la potenziale ricaduta derivante dal suo impiego nella pratica clinica quotidiana. Il limitato numero di casi, considerata l'elevata prevalenza di pazienti con stenosi aortica nella popolazione generale, è dovuto alla selettività utilizzata nella raccolta degli stessi, al fine di escludere fattori di confondimento tanto emodinamici/ecocardiografici (insufficienze valvolari; ridotta frazione di eiezione) che tissutali (infarto miocardico/sindromi coronariche acute) nonché alla disponibilità in loco di alternative percutanee alla sostituzione valvolare, in pazienti pur a basso rischio ma rifiutati dal cardiocirurgo. Sono stati esclusi pazienti che avrebbero comunque eseguito tale tipo di procedura per le elevate comorbidità o precedenti indicazioni poste già all'atto del ricovero in dipartimento.

Questo allo scopo di massimizzare la raccolta di pazienti su cui eseguire studio istologico (limitata disponibilità di kit per analisi tissutale).

Inoltre, la scelta di pazienti con frazione di eiezione preservata ( $FE > 50\%$ ) è intesa allo scopo di individuare predittori precoci di disfunzione miocardica prima dell'instaurarsi di più tardive alterazioni "macroscopiche".

Le alterazioni istologiche associate alla stenosi aortica sono certamente diffuse e l'estrapolazione di questi risultati ("mono-regionali" settali) può risultare impropria. Tuttavia, come ampiamente già dimostrato (70, 138) le regioni più precocemente interessate dal processo patologico di fibrosi sono quelle basali, in particolare il setto.

Non sono state inoltre valutate le componenti radiali e circonferenziali dello strain, per la difficoltà e la scarsa riproducibilità delle stesse, ritenendo, come più volte enunciato in letteratura, i parametri longitudinali più affidabili e dotati di maggior fattibilità ed impatto clinico, soprattutto in presenza di ipertrofia concentrica.

L'assenza di un gruppo di controllo per i parametri di deformazione miocardica saggiata non è da intendersi come un limite in quanto, per i pazienti sottoposti a

biopsia, il confronto è stato possibile con il loro tessuto miocardico e quindi, indipendentemente, dotato di elevato potere statistico e diagnostico (paziente controllo di sé stesso).

Inoltre, considerata l'attuale uniformità dei pacchetti per la valutazione della deformazione miocardica disponibili in commercio e le ampie casistiche presentate in letteratura, che hanno fornito affidabili range di normalità per i parametri longitudinali, anche in recentissime metanalisi (125, 151) (soggetti normali; ipertesi; cardiomiopatia ipertrofica ecc.), non si è ritenuto necessario avere un gruppo di controllo altro rispetto ai pazienti con stenosi valvolare, non essendo possibile in tale contesto confronto istologico.

Altro limite, da intendersi temporaneo, è al momento l'assenza di un follow-up a lungo termine dei pazienti sottoposti a sostituzione valvolare aortica. La valutazione degli outcome clinici ed operatori ad almeno 12 mesi e la correlazione di questi tanto con i parametri istologici ma soprattutto ecocardiografici e di deformazione miocardica, fornirà probabili ulteriori spazi di riflessione.

L'assenza di correlazione tra miRNA plasmatico e percentuale di fibrosi è probabilmente legata al limitato numero di preparati biologici disponibili ed al fatto che, anche in precedenza, l'espressione tissutale (e non plasmatica) del parametro è risultata correlare non tanto con la percentuale assoluta di fibrosi, quanto con la presenza di soli fibroblasti, mancandone l'espressione a livello cellulare miocardico.



## 6.CONCLUSIONI

*La stenosi valvolare aortica degenerativa è una valvulopatia a crescente impatto nella popolazione, con una prevalenza ed una necessità di trattamenti destinata ad un progressivo incremento nei prossimi anni.*

*Considerate le lente ma spesso irreversibili alterazioni ultrastrutturali che questa comporta, una strategia di attesa dei sintomi o della riduzione della frazione di eiezione, ancorchè vigile, può risultare impropria.*

*La sfida per il clinico e l'ecocardiografista è dunque legata all'identificazione della disfunzione contrattile ventricolare sinistra in una fase precoce o subclinica, in modo tale da poter impostare un follow-up più stretto del paziente per prevenirne la disfunzione ventricolare.*

*L'utilizzo quindi di una metodica, come lo speckle-tracking, attualmente ampiamente disponibile, a basso costo, di rapido apprendimento e di elevato potere diagnostico (sensibilità/specificità) per l'identificazione della patologia tissutale miocardica può cambiare favorevolmente la gestione clinica dei pazienti.*

*Attualmente, in assenza di sintomi, l'indicazione ad intervenire viene posta solo nella fase avanzata della patologia, quando cioè si verifica una compromissione dell'inotropismo, valutata in termini di mera frazione di eiezione.*

*Molti degli indici di severità della valvulopatia sono inoltre limitati in quanto flusso dipendenti.*

*Nei pazienti con frazione di eiezione preservata invece, la sintomatologia che accompagna il rilievo ecocardiografico di stenosi valvolare aortica severa, può spesso essere sfumata, sottostimata, talora frammista a quella di comorbidità legate all'avanzare dell'età e spesso assai tardiva.*

*Individuare dunque lungo il corso insidioso della valvulopatia aortica il virare silente della funzione sistolica ventricolare sinistra verso la disfunzione subclinica è di centrale importanza per il cardiologo e l'ecocardiografista e, grazie alle attuali metodiche, di pronta esecuzione e realmente oggettivabile.*

*Anche se metodiche più sensibili per la definizione della disfunzione longitudinale, come la valutazione del MAPSE o il tissue Doppler imaging, sono in grado di rilevare iniziali alterazioni della contrattilità, queste non mostrano altrettanta capacità di stratificare i pazienti non avendo buona correlazione con la clinica ed i parametri biumorali né con i parametri tissutali (fibrosi).*

*Inoltre, le limitazioni connesse alle metodiche (mono-dimensionalità; angolo dipendenza; elevata variabilità intra ed inter-operatore; tecnicismo dell'esecuzione dell'esame) rendono evidente l'utilità di una nuova metodica (speckle-tracking) che consente in maniera rapida, accurata, riproducibile e bedside di oggettivare parametri di deformazione miocardica fino ad ora di difficile esecuzione.*

*La valutazione del global longitudinal strain e degli strain e strain rate regionali settali dimostra di possedere una significativa capacità di stratificare i pazienti sulla base delle caratteristiche cliniche ed umorali e di correlare significativamente con la componente fibrotica sostitutiva che costituisce uno dei substrati fisiopatologici principali implicati nella prognosi sfavorevole dei pazienti con stenosi aortica. Pertanto può avere un ruolo significativo nella gestione dei pazienti, con verosimile ricaduta prognostica.*

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, Gardin JM, Gottdiener JS, Smith VE, et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *Cardiovascular Health Study. Journal of the American College of Cardiology*. 1997 Mar 1;29(3):630-4. PubMed PMID: 9060903.
2. Lee R, Li S, Rankin JS, O'Brien SM, Gammie JS, Peterson ED, et al. Fifteen-year outcome trends for valve surgery in North America. *The Annals of thoracic surgery*. 2011 Mar;91(3):677-84; discussion p 84. PubMed PMID: 21352979.
3. Brown JM, O'Brien SM, Wu C, Sikora JA, Griffith BP, Gammie JS. Isolated aortic valve replacement in North America comprising 108,687 patients in 10 years: changes in risks, valve types, and outcomes in the Society of Thoracic Surgeons National Database. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2009 Jan;137(1):82-90. PubMed PMID: 19154908.
4. Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, Gersh BJ, Siscovick DS. Association of aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *The New England journal of medicine*. 1999 Jul 15;341(3):142-7. PubMed PMID: 10403851.
5. Nkomo VT, Gardin JM, Skelton TN, Gottdiener JS, Scott CG, Enriquez-Sarano M. Burden of valvular heart diseases: a population-based study. *Lancet*. 2006 Sep 16;368(9540):1005-11. PubMed PMID: 16980116.
6. Owens DS, Katz R, Takasu J, Kronmal R, Budoff MJ, O'Brien KD. Incidence and progression of aortic valve calcium in the Multi-ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *The American journal of cardiology*. 2010 Mar 1;105(5):701-8. PubMed PMID: 20185020. Pubmed Central PMCID: 2829478.
7. Novaro GM, Katz R, Aviles RJ, Gottdiener JS, Cushman M, Psaty BM, et al. Clinical factors, but not C-reactive protein, predict progression of calcific aortic-valve disease: the Cardiovascular Health Study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007 Nov 13;50(20):1992-8. PubMed PMID: 17996566.
8. Otto CM, Burwash IG, Legget ME, Munt BI, Fujioka M, Healy NL, et al. Prospective study of asymptomatic valvular aortic stenosis. Clinical, echocardiographic, and exercise predictors of outcome. *Circulation*. 1997 May 6;95(9):2262-70. PubMed PMID: 9142003.
9. Rosenhek R, Klaar U, Schemper M, Scholten C, Heger M, Gabriel H, et al. Mild and moderate aortic stenosis. Natural history and risk stratification by echocardiography. *European heart journal*. 2004 Feb;25(3):199-205. PubMed PMID: 14972419.
10. Carabello BA, Paulus WJ. Aortic stenosis. *Lancet*. 2009 Mar 14;373(9667):956-66. PubMed PMID: 19232707.
11. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice G, Society of Cardiovascular A, Society for Cardiovascular A, Interventions, Society of Thoracic S, Bonow RO, et al. ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (writing committee to revise the 1998 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease): developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists: endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons. *Circulation*. 2006 Aug 1;114(5):e84-231. PubMed PMID: 16880336.
12. Gerber IL, Stewart RA, Legget ME, West TM, French RL, Sutton TM, et al. Increased plasma natriuretic peptide levels reflect symptom onset in aortic stenosis. *Circulation*. 2003 Apr 15;107(14):1884-90. PubMed PMID: 12668523.
13. Galante A, Pietroiusti A, Vellini M, Piccolo P, Possati G, De Bonis M, et al. C-reactive protein is increased in patients with degenerative aortic valvular stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001 Oct;38(4):1078-82. PubMed PMID: 11583885.
14. Bergler-Klein J, Klaar U, Heger M, Rosenhek R, Mundigler G, Gabriel H, et al. Natriuretic peptides predict symptom-free survival and postoperative outcome in severe aortic stenosis. *Circulation*. 2004 May 18;109(19):2302-8. PubMed PMID: 15117847.
15. Pedrazzini GB, Masson S, Latini R, Klersy C, Rossi MG, Pasotti E, et al. Comparison of brain natriuretic peptide plasma levels versus logistic EuroSCORE in predicting in-hospital and late postoperative mortality in patients undergoing aortic valve replacement for symptomatic aortic stenosis. *The American journal of cardiology*. 2008 Sep 15;102(6):749-54. PubMed PMID: 18774001.

16. *Neverdal NO, Knudsen CW, Husebye T, Vengen OA, Pepper J, Lie M, et al. The effect of aortic valve replacement on plasma B-type natriuretic peptide in patients with severe aortic stenosis--one year follow-up. European journal of heart failure. 2006 May;8(3):257-62. PubMed PMID: 16466963.*
17. *Monin JL, Lancellotti P, Monchi M, Lim P, Weiss E, Pierard L, et al. Risk score for predicting outcome in patients with asymptomatic aortic stenosis. Circulation. 2009 Jul 7;120(1):69-75. PubMed PMID: 19546391.*
18. *Duncan AI, Lowe BS, Garcia MJ, Xu M, Gillinov AM, Mihaljevic T, et al. Influence of concentric left ventricular remodeling on early mortality after aortic valve replacement. The Annals of thoracic surgery. 2008 Jun;85(6):2030-9. PubMed PMID: 18498815.*
19. *Mihaljevic T, Nowicki ER, Rajeswaran J, Blackstone EH, Lagazzi L, Thomas J, et al. Survival after valve replacement for aortic stenosis: implications for decision making. The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. 2008 Jun;135(6):1270-8; discussion 8-9. PubMed PMID: 18544369.*
20. *Briand M, Dumesnil JG, Kadem L, Tongue AG, Rieu R, Garcia D, et al. Reduced systemic arterial compliance impacts significantly on left ventricular afterload and function in aortic stenosis: implications for diagnosis and treatment. Journal of the American College of Cardiology. 2005 Jul 19;46(2):291-8. PubMed PMID: 16022957.*
21. *Kupari M, Turto H, Lommi J. Left ventricular hypertrophy in aortic valve stenosis: preventive or promotive of systolic dysfunction and heart failure? European heart journal. 2005 Sep;26(17):1790-6. PubMed PMID: 15860517.*
22. *Rodes-Cabau J, Webb JG, Cheung A, Ye J, Dumont E, Feindel CM, et al. Transcatheter aortic valve implantation for the treatment of severe symptomatic aortic stenosis in patients at very high or prohibitive surgical risk: acute and late outcomes of the multicenter Canadian experience. Journal of the American College of Cardiology. 2010 Mar 16;55(11):1080-90. PubMed PMID: 20096533.*
23. *Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy. Chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. Circulation. 1995 May 15;91(10):2642-54. PubMed PMID: 7743628.*
24. *Chockalingam A, Venkatesan S, Subramaniam T, Jagannathan V, Elangovan S, Alagesan R, et al. Safety and efficacy of angiotensin-converting enzyme inhibitors in symptomatic severe aortic stenosis: Symptomatic Cardiac Obstruction-Pilot Study of Enalapril in Aortic Stenosis (SCOPE-AS). American heart journal. 2004 Apr;147(4):E19. PubMed PMID: 15077102.*
25. *Nadir MA, Wei L, Elder DH, Libianto R, Lim TK, Pauriah M, et al. Impact of renin-angiotensin system blockade therapy on outcome in aortic stenosis. Journal of the American College of Cardiology. 2011 Aug 2;58(6):570-6. PubMed PMID: 21798417.*
26. *Miller JD, Weiss RM, Heistad DD. Calcific aortic valve stenosis: methods, models, and mechanisms. Circulation research. 2011 May 27;108(11):1392-412. PubMed PMID: 21617136. Pubmed Central PMCID: 3150727.*
27. *Rossebo AB, Pedersen TR, Boman K, Brudi P, Chambers JB, Egstrup K, et al. Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. The New England journal of medicine. 2008 Sep 25;359(13):1343-56. PubMed PMID: 18765433.*
28. *Chan KL, Teo K, Dumesnil JG, Ni A, Tam J, Investigators A. Effect of Lipid lowering with rosuvastatin on progression of aortic stenosis: results of the aortic stenosis progression observation: measuring effects of rosuvastatin (ASTRONOMER) trial. Circulation. 2010 Jan 19;121(2):306-14. PubMed PMID: 20048204.*
29. *McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M, Dickstein K, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. European heart journal. 2012 Jul;33(14):1787-847. PubMed PMID: 22611136.*
30. *Kapadia SR, Goel SS, Yuksel U, Agarwal S, Pettersson G, Svensson LG, et al. Lessons learned from balloon aortic valvuloplasty experience from the pre-transcatheter aortic valve implantation era. Journal of interventional cardiology. 2010 Oct;23(5):499-508. PubMed PMID: 20624204.*

31. Kennedy KD, Nishimura RA, Holmes DR, Jr., Bailey KR. Natural history of moderate aortic stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 1991 Feb;17(2):313-9. PubMed PMID: 1991886.
32. Di Eusanio M, Fortuna D, De Palma R, Dell'Amore A, Lamarra M, Contini GA, et al. Aortic valve replacement: results and predictors of mortality from a contemporary series of 2256 patients. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2011 Apr;141(4):940-7. PubMed PMID: 20599229.
33. Lund O, Flo C, Jensen FT, Emmertsen K, Nielsen TT, Rasmussen BS, et al. Left ventricular systolic and diastolic function in aortic stenosis. Prognostic value after valve replacement and underlying mechanisms. *European heart journal*. 1997 Dec;18(12):1977-87. PubMed PMID: 9447328.
34. Vaquette B, Corbineau H, Laurent M, Lelong B, Langanay T, de Place C, et al. Valve replacement in patients with critical aortic stenosis and depressed left ventricular function: predictors of operative risk, left ventricular function recovery, and long term outcome. *Heart*. 2005 Oct;91(10):1324-9. PubMed PMID: 16162627. Pubmed Central PMCID: 1769144.
35. Cheitlin MD. Asymptomatic adult patients with aortic stenosis: should they ever have aortic valve replacement? *The American heart hospital journal*. 2005 Fall;3(4):243-6; quiz 7-8. PubMed PMID: 16330916.
36. Sharma UC, Barenbrug P, Pokharel S, Dassen WR, Pinto YM, Maessen JG. Systematic review of the outcome of aortic valve replacement in patients with aortic stenosis. *The Annals of thoracic surgery*. 2004 Jul;78(1):90-5. PubMed PMID: 15223410.
37. Khot UN, Novaro GM, Popovic ZB, Mills RM, Thomas JD, Tuzcu EM, et al. Nitroprusside in critically ill patients with left ventricular dysfunction and aortic stenosis. *The New England journal of medicine*. 2003 May 1;348(18):1756-63. PubMed PMID: 12724481.
38. Likosky DS, Sorensen MJ, Dacey LJ, Baribeau YR, Leavitt BJ, DiScipio AW, et al. Long-term survival of the very elderly undergoing aortic valve surgery. *Circulation*. 2009 Sep 15;120(11 Suppl):S127-33. PubMed PMID: 19752357.
39. Connolly HM, Oh JK, Schaff HV, Roger VL, Osborn SL, Hodge DO, et al. Severe aortic stenosis with low transvalvular gradient and severe left ventricular dysfunction: result of aortic valve replacement in 52 patients. *Circulation*. 2000 Apr 25;101(16):1940-6. PubMed PMID: 10779460.
40. Ambler G, Omar RZ, Royston P, Kinsman R, Keogh BE, Taylor KM. Generic, simple risk stratification model for heart valve surgery. *Circulation*. 2005 Jul 12;112(2):224-31. PubMed PMID: 15998680.
41. Goodney PP, O'Connor GT, Wennberg DE, Birkmeyer JD. Do hospitals with low mortality rates in coronary artery bypass also perform well in valve replacement? *The Annals of thoracic surgery*. 2003 Oct;76(4):1131-6; discussion 6-7. PubMed PMID: 14529999.
42. Pellikka PA, Sarano ME, Nishimura RA, Malouf JF, Bailey KR, Scott CG, et al. Outcome of 622 adults with asymptomatic, hemodynamically significant aortic stenosis during prolonged follow-up. *Circulation*. 2005 Jun 21;111(24):3290-5. PubMed PMID: 15956131.
43. Schwarz F, Baumann P, Manthey J, Hoffmann M, Schuler G, Mehmel HC, et al. The effect of aortic valve replacement on survival. *Circulation*. 1982 Nov;66(5):1105-10. PubMed PMID: 7127696.
44. Vaishnava P, Fuster V, Goldman M, Bonow RO. Surgery for asymptomatic degenerative aortic and mitral valve disease. *Nature reviews Cardiology*. 2011 Mar;8(3):173-7. PubMed PMID: 21243010.
45. Rosenhek R, Binder T, Porenta G, Lang I, Christ G, Schemper M, et al. Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. *The New England journal of medicine*. 2000 Aug 31;343(9):611-7. PubMed PMID: 10965007.
46. Nistri S, Faggiano P, Olivotto I, Papesso B, Bordonali T, Vescovo G, et al. Hemodynamic progression and outcome of asymptomatic aortic stenosis in primary care. *The American journal of cardiology*. 2012 Mar 1;109(5):718-23. PubMed PMID: 22154322.
47. Kang DH, Park SJ, Rim JH, Yun SC, Kim DH, Song JM, et al. Early surgery versus conventional treatment in asymptomatic very severe aortic stenosis. *Circulation*. 2010 Apr 6;121(13):1502-9. PubMed PMID: 20308614.
48. Bouma BJ, van Den Brink RB, van Der Meulen JH, Verheul HA, Cheriex EC, Hamer HP, et al. To operate or not on elderly patients with aortic stenosis: the decision and its consequences. *Heart*. 1999 Aug;82(2):143-8. PubMed PMID: 10409526. Pubmed Central PMCID: 1729124.

49. Iung B, Cachier A, Baron G, Messika-Zeitoun D, Delahaye F, Tornos P, et al. Decision-making in elderly patients with severe aortic stenosis: why are so many denied surgery? *European heart journal*. 2005 Dec;26(24):2714-20. PubMed PMID: 16141261.
50. Holmes DR, Jr., Mack MJ, Kaul S, Agnihotri A, Alexander KP, Bailey SR, et al. 2012 ACCF/AATS/SCAI/STS expert consensus document on transcatheter aortic valve replacement. *Journal of the American College of Cardiology*. 2012 Mar 27;59(13):1200-54. PubMed PMID: 22300974.
51. Makkar RR, Fontana GP, Jilaihawi H, Kapadia S, Pichard AD, Douglas PS, et al. Transcatheter aortic-valve replacement for inoperable severe aortic stenosis. *The New England journal of medicine*. 2012 May 3;366(18):1696-704. PubMed PMID: 22443478.
52. Smith CR, Leon MB, Mack MJ, Miller DC, Moses JW, Svensson LG, et al. Transcatheter versus surgical aortic-valve replacement in high-risk patients. *The New England journal of medicine*. 2011 Jun 9;364(23):2187-98. PubMed PMID: 21639811.
53. Leon MB, Smith CR, Mack M, Miller DC, Moses JW, Svensson LG, et al. Transcatheter aortic-valve implantation for aortic stenosis in patients who cannot undergo surgery. *The New England journal of medicine*. 2010 Oct 21;363(17):1597-607. PubMed PMID: 20961243.
54. Grossman W, Jones D, McLaurin LP. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *The Journal of clinical investigation*. 1975 Jul;56(1):56-64. PubMed PMID: 124746. Pubmed Central PMCID: 436555.
55. Badeer HS. Biological Significance of Cardiac Hypertrophy. *The American journal of cardiology*. 1964 Aug;14:133-8. PubMed PMID: 14204755.
56. Monrad ES, Hess OM, Murakami T, Nonogi H, Corin WJ, Krayenbuehl HP. Time course of regression of left ventricular hypertrophy after aortic valve replacement. *Circulation*. 1988 Jun;77(6):1345-55. PubMed PMID: 2967128.
57. Villari B, Vassalli G, Monrad ES, Chiariello M, Turina M, Hess OM. Normalization of diastolic dysfunction in aortic stenosis late after valve replacement. *Circulation*. 1995 May 1;91(9):2353-8. PubMed PMID: 7729021.
58. Peterson KL, Tsuji J, Johnson A, DiDonna J, LeWinter M. Diastolic left ventricular pressure-volume and stress-strain relations in patients with valvular aortic stenosis and left ventricular hypertrophy. *Circulation*. 1978 Jul;58(1):77-89. PubMed PMID: 148335.
59. Ross J, Jr. Afterload mismatch and preload reserve: a conceptual framework for the analysis of ventricular function. *Progress in cardiovascular diseases*. 1976 Jan-Feb;18(4):255-64. PubMed PMID: 128034.
60. Weber KT. Angiotensin II and connective tissue: homeostasis and reciprocal regulation. *Regulatory peptides*. 1999 Jun 30;82(1-3):1-17. PubMed PMID: 10458642.
61. Schultz Jel J, Witt SA, Glascock BJ, Nieman ML, Reiser PJ, Nix SL, et al. TGF-beta1 mediates the hypertrophic cardiomyocyte growth induced by angiotensin II. *The Journal of clinical investigation*. 2002 Mar;109(6):787-96. PubMed PMID: 11901187. Pubmed Central PMCID: 150912.
62. Carabelleo BA. Clinical practice. Aortic stenosis. *The New England journal of medicine*. 2002 Feb 28;346(9):677-82. PubMed PMID: 11870246.
63. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *The New England journal of medicine*. 1990 May 31;322(22):1561-6. PubMed PMID: 2139921.
64. Cioffi G, Faggiano P, Vizzardi E, Tarantini L, Cramariuc D, Gerds E, et al. Prognostic effect of inappropriately high left ventricular mass in asymptomatic severe aortic stenosis. *Heart*. 2011 Feb;97(4):301-7. PubMed PMID: 20720251.
65. Krayenbuehl HP, Hess OM, Ritter M, Monrad ES, Hoppeler H. Left ventricular systolic function in aortic stenosis. *European heart journal*. 1988 Apr;9 Suppl E:19-23. PubMed PMID: 2969811.
66. Marcus ML, Doty DB, Hiratzka LF, Wright CB, Eastham CL. Decreased coronary reserve: a mechanism for angina pectoris in patients with aortic stenosis and normal coronary arteries. *The New England journal of medicine*. 1982 Nov 25;307(22):1362-6. PubMed PMID: 6215582.
67. Rajappan K, Rimoldi OE, Dutka DP, Ariff B, Pennell DJ, Sheridan DJ, et al. Mechanisms of coronary microcirculatory dysfunction in patients with aortic stenosis and angiographically normal coronary arteries. *Circulation*. 2002 Jan 29;105(4):470-6. PubMed PMID: 11815430.
68. Lester SJ, Heilbron B, Gin K, Dodek A, Jue J. The natural history and rate of progression of aortic stenosis. *Chest*. 1998 Apr;113(4):1109-14. PubMed PMID: 9554654.

69. Heymans S, Schroen B, Vermeersch P, Milting H, Gao F, Kassner A, et al. Increased cardiac expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 is related to cardiac fibrosis and dysfunction in the chronic pressure-overloaded human heart. *Circulation*. 2005 Aug 23;112(8):1136-44. PubMed PMID: 16103240.
70. Weidemann F, Herrmann S, Stork S, Niemann M, Frantz S, Lange V, et al. Impact of myocardial fibrosis in patients with symptomatic severe aortic stenosis. *Circulation*. 2009 Aug 18;120(7):577-84. PubMed PMID: 19652094.
71. Carabello BA, Green LH, Grossman W, Cohn LH, Koster JK, Collins JJ, Jr. Hemodynamic determinants of prognosis of aortic valve replacement in critical aortic stenosis and advanced congestive heart failure. *Circulation*. 1980 Jul;62(1):42-8. PubMed PMID: 7379284.
72. Hein S, Arnon E, Kostin S, Schonburg M, Elsasser A, Polyakova V, et al. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart: structural deterioration and compensatory mechanisms. *Circulation*. 2003 Feb 25;107(7):984-91. PubMed PMID: 12600911.
73. Martos R, Baugh J, Ledwidge M, O'Loughlin C, Conlon C, Patle A, et al. Diastolic heart failure: evidence of increased myocardial collagen turnover linked to diastolic dysfunction. *Circulation*. 2007 Feb 20;115(7):888-95. PubMed PMID: 17283265.
74. Foppl M, Hoffmann A, Amann FW, Roth J, Stulz P, Hasse J, et al. Sudden cardiac death after aortic valve surgery: incidence and concomitant factors. *Clinical cardiology*. 1989 Apr;12(4):202-7. PubMed PMID: 2714032.
75. Nazarian S. Is ventricular arrhythmia a possible mediator of the association between aortic stenosis-related midwall fibrosis and mortality? *Journal of the American College of Cardiology*. 2011 Sep 13;58(12):1280-2. PubMed PMID: 21903063.
76. Sugihara N, Genda A, Shimizu M, Suematsu T, Kita Y, Minamoto M, et al. [Diastolic dysfunction and its relation to myocardial fibrosis in essential hypertension]. *Journal of cardiology*. 1988 Jun;18(2):353-61. PubMed PMID: 2977793.
77. Diez J. Mechanisms of cardiac fibrosis in hypertension. *Journal of clinical hypertension*. 2007 Jul;9(7):546-50. PubMed PMID: 17617765.
78. Jellis C, Martin J, Narula J, Marwick TH. Assessment of nonischemic myocardial fibrosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010 Jul 6;56(2):89-97. PubMed PMID: 20620723.
79. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiological reviews*. 1999 Jan;79(1):215-62. PubMed PMID: 9922372.
80. Anderson KR, Sutton MG, Lie JT. Histopathological types of cardiac fibrosis in myocardial disease. *The Journal of pathology*. 1979 Jun;128(2):79-85. PubMed PMID: 572867.
81. Weber KT. Fibrosis in hypertensive heart disease: focus on cardiac fibroblasts. *Journal of hypertension*. 2004 Jan;22(1):47-50. PubMed PMID: 15106793.
82. Lindsay MM, Maxwell P, Dunn FG. TIMP-1: a marker of left ventricular diastolic dysfunction and fibrosis in hypertension. *Hypertension*. 2002 Aug;40(2):136-41. PubMed PMID: 12154103.
83. Schunkert H, Brockel U, Hengstenberg C, Luchner A, Muscholl MW, Kurzidim K, et al. Familial predisposition of left ventricular hypertrophy. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999 May;33(6):1685-91. PubMed PMID: 10334443.
84. Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM, Prasad K, Losi MA, Hemingway H, et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation*. 1997 Aug 5;96(3):741-7. PubMed PMID: 9264477.
85. Di Bello V, Giorgi D, Viacava P, Enrica T, Nardi C, Palagi C, et al. Severe aortic stenosis and myocardial function: diagnostic and prognostic usefulness of ultrasonic integrated backscatter analysis. *Circulation*. 2004 Aug 17;110(7):849-55. PubMed PMID: 15302789.
86. Monrad ES, Hess OM, Murakami T, Nonogi H, Corin WJ, Kraysenbuehl HP. Abnormal exercise hemodynamics in patients with normal systolic function late after aortic valve replacement. *Circulation*. 1988 Mar;77(3):613-24. PubMed PMID: 3342492.
87. Azevedo CF, Nigri M, Higuchi ML, Pomerantzeff PM, Spina GS, Sampaio RO, et al. Prognostic significance of myocardial fibrosis quantification by histopathology and magnetic resonance imaging in patients with severe aortic valve disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010 Jul 20;56(4):278-87. PubMed PMID: 20633819.
88. Mimbs JW, O'Donnell M, Bauwens D, Miller JW, Sobel BE. The dependence of ultrasonic attenuation and backscatter on collagen content in dog and rabbit hearts. *Circulation research*. 1980 Jul;47(1):49-58. PubMed PMID: 6247101.

89. Picano E, Pelosi G, Marzilli M, Lattanzi F, Benassi A, Landini L, et al. In vivo quantitative ultrasonic evaluation of myocardial fibrosis in humans. *Circulation*. 1990 Jan;81(1):58-64. PubMed PMID: 2404628.
90. Rossi MA. Pathologic fibrosis and connective tissue matrix in left ventricular hypertrophy due to chronic arterial hypertension in humans. *Journal of hypertension*. 1998 Jul;16(7):1031-41. PubMed PMID: 9794745.
91. Small EM, Frost RJ, Olson EN. MicroRNAs add a new dimension to cardiovascular disease. *Circulation*. 2010 Mar 2;121(8):1022-32. PubMed PMID: 20194875. Pubmed Central PMCID: 2847432.
92. Thum T, Gross C, Fiedler J, Fischer T, Kissler S, Bussen M, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature*. 2008 Dec 18;456(7224):980-4. PubMed PMID: 19043405.
93. Villar AV, Garcia R, Merino D, Llano M, Cobo M, Montalvo C, et al. Myocardial and circulating levels of microRNA-21 reflect left ventricular fibrosis in aortic stenosis patients. *International journal of cardiology*. 2013 Sep 10;167(6):2875-81. PubMed PMID: 22882958.
94. Wu E, Judd RM, Vargas JD, Klocke FJ, Bonow RO, Kim RJ. Visualisation of presence, location, and transmural extent of healed Q-wave and non-Q-wave myocardial infarction. *Lancet*. 2001 Jan 6;357(9249):21-8. PubMed PMID: 11197356.
95. Rudolph A, Abdel-Aty H, Bohl S, Boye P, Zagrosek A, Dietz R, et al. Noninvasive detection of fibrosis applying contrast-enhanced cardiac magnetic resonance in different forms of left ventricular hypertrophy relation to remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009 Jan 20;53(3):284-91. PubMed PMID: 19147047.
96. Dweck MR, Joshi S, Murigu T, Alpendurada F, Jabbour A, Melina G, et al. Midwall fibrosis is an independent predictor of mortality in patients with aortic stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011 Sep 13;58(12):1271-9. PubMed PMID: 21903062.
97. Chin CW, Semple S, Malley T, White AC, Mirsadraee S, Weale PJ, et al. Optimization and comparison of myocardial T1 techniques at 3T in patients with aortic stenosis. *European heart journal cardiovascular Imaging*. 2014 May;15(5):556-65. PubMed PMID: 24282220. Pubmed Central PMCID: 3979453.
98. Shan K, Bick RJ, Poindexter BJ, Shimoni S, Letsou GV, Reardon MJ, et al. Relation of tissue Doppler derived myocardial velocities to myocardial structure and beta-adrenergic receptor density in humans. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000 Sep;36(3):891-6. PubMed PMID: 10987616.
99. Simpson RM, Keegan J, Firmin DN. MR assessment of regional myocardial mechanics. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2013 Mar;37(3):576-99. PubMed PMID: 22826177.
100. Popovic ZB, Kwon DH, Mishra M, Buakhamsri A, Greenberg NL, Thamilarasan M, et al. Association between regional ventricular function and myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy assessed by speckle tracking echocardiography and delayed hyperenhancement magnetic resonance imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2008 Dec;21(12):1299-305. PubMed PMID: 19041572.
101. Park TH, Nagueh SF, Khoury DS, Kopelen HA, Akrivakis S, Nasser K, et al. Impact of myocardial structure and function postinfarction on diastolic strain measurements: implications for assessment of myocardial viability. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2006 Feb;290(2):H724-31. PubMed PMID: 16183729.
102. Lafitte S, Perlant M, Reant P, Serri K, Douard H, DeMaria A, et al. Impact of impaired myocardial deformations on exercise tolerance and prognosis in patients with asymptomatic aortic stenosis. *European journal of echocardiography : the journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology*. 2009 May;10(3):414-9. PubMed PMID: 18996958.
103. Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, Antunes MJ, Baron-Esquivias G, Baumgartner H, et al. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012): the Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *European journal of cardiothoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2012 Oct;42(4):S1-44. PubMed PMID: 22922698.
104. Baumgartner H, Hung J, Bermejo J, Chambers JB, Evangelista A, Griffin BP, et al. Echocardiographic assessment of valve stenosis: EAE/ASE recommendations for clinical



- practice. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2009 Jan;22(1):1-23; quiz 101-2. PubMed PMID: 19130998.
105. Minners J, Allgeier M, Gohlke-Baerwolf C, Kienzle RP, Neumann FJ, Jander N. Inconsistent grading of aortic valve stenosis by current guidelines: haemodynamic studies in patients with apparently normal left ventricular function. *Heart*. 2010 Sep;96(18):1463-8. PubMed PMID: 20813727.
  106. Griffith MJ, Carey C, Coltart DJ, Jenkins BS, Webb-Peploe MM. Inaccuracies in using aortic valve gradients alone to grade severity of aortic stenosis. *British heart journal*. 1989 Nov;62(5):372-8. PubMed PMID: 2531603. Pubmed Central PMCID: 1224836.
  107. Rosenhek R, Zilberszac R, Schemper M, Czerny M, Mundigler G, Graf S, et al. Natural history of very severe aortic stenosis. *Circulation*. 2010 Jan 5;121(1):151-6. PubMed PMID: 20026771.
  108. Bahlmann E, Gerds E, Cramariuc D, Gohlke-Baerwolf C, Nienaber CA, Wachtell K, et al. Prognostic value of energy loss index in asymptomatic aortic stenosis. *Circulation*. 2013 Mar 12;127(10):1149-56. PubMed PMID: 23357717.
  109. Hachicha Z, Dumesnil JG, Bogaty P, Pibarot P. Paradoxical low-flow, low-gradient severe aortic stenosis despite preserved ejection fraction is associated with higher afterload and reduced survival. *Circulation*. 2007 Jun 5;115(22):2856-64. PubMed PMID: 17533183.
  110. Picano E, Pibarot P, Lancellotti P, Monin JL, Bonow RO. The emerging role of exercise testing and stress echocardiography in valvular heart disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009 Dec 8;54(24):2251-60. PubMed PMID: 19958961.
  111. Messika-Zeitoun D, Aubry MC, Detaint D, Bielak LF, Peyser PA, Sheedy PF, et al. Evaluation and clinical implications of aortic valve calcification measured by electron-beam computed tomography. *Circulation*. 2004 Jul 20;110(3):356-62. PubMed PMID: 15249504.
  112. Hachicha Z, Dumesnil JG, Pibarot P. Usefulness of the valvuloarterial impedance to predict adverse outcome in asymptomatic aortic stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009 Sep 8;54(11):1003-11. PubMed PMID: 19729117.
  113. Mutlak D, Aronson D, Carasso S, Lessick J, Reisner SA, Agmon Y. Frequency, determinants and outcome of pulmonary hypertension in patients with aortic valve stenosis. *The American journal of the medical sciences*. 2012 May;343(5):397-401. PubMed PMID: 21946829.
  114. Pibarot P, Dumesnil JG. Aortic stenosis: look globally, think globally. *JACC Cardiovascular imaging*. 2009 Apr;2(4):400-3. PubMed PMID: 19580720.
  115. Dumesnil JG, Shoucri RM, Laurenceau JL, Turcot J. A mathematical model of the dynamic geometry of the intact left ventricle and its application to clinical data. *Circulation*. 1979 May;59(5):1024-34. PubMed PMID: 428084.
  116. Dumesnil JG, Shoucri RM. Quantitative relationships between left ventricular ejection and wall thickening and geometry. *Journal of applied physiology*. 1991 Jan;70(1):48-54. PubMed PMID: 1826294.
  117. Iwahashi N, Nakatani S, Kanzaki H, Hasegawa T, Abe H, Kitakaze M. Acute improvement in myocardial function assessed by myocardial strain and strain rate after aortic valve replacement for aortic stenosis. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2006 Oct;19(10):1238-44. PubMed PMID: 17000362.
  118. Peterson KL. Severe calcific aortic stenosis left ventricular afterload and its quantification. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005 Jul 19;46(2):299-301. PubMed PMID: 16022958.
  119. Mor-Avi V, Lang RM, Badano LP, Belohlavek M, Cardim NM, Derumeaux G, et al. Current and evolving echocardiographic techniques for the quantitative evaluation of cardiac mechanics: ASE/EAE consensus statement on methodology and indications endorsed by the Japanese Society of Echocardiography. *European journal of echocardiography : the journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology*. 2011 Mar;12(3):167-205. PubMed PMID: 21385887.
  120. Pirat B, Houry DS, Hartley CJ, Tiller L, Rao L, Schulz DG, et al. A novel feature-tracking echocardiographic method for the quantitation of regional myocardial function: validation in an animal model of ischemia-reperfusion. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008 Feb 12;51(6):651-9. PubMed PMID: 18261685. Pubmed Central PMCID: 3348770.
  121. Amundsen BH, Helle-Valle T, Edvardsen T, Torp H, Crosby J, Lyseggen E, et al. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against

- sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006 Feb 21;47(4):789-93. PubMed PMID: 16487846.
122. Torrent-Guasp F, Kocica MJ, Corno AF, Komeda M, Carreras-Costa F, Flotats A, et al. Towards new understanding of the heart structure and function. *European journal of cardiothoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2005 Feb;27(2):191-201. PubMed PMID: 15691670.
  123. Geyer H, Caracciolo G, Abe H, Wilansky S, Carerj S, Gentile F, et al. Assessment of myocardial mechanics using speckle tracking echocardiography: fundamentals and clinical applications. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2010 Apr;23(4):351-69; quiz 453-5. PubMed PMID: 20362924.
  124. Kuznetsova T, Herbots L, Richart T, D'Hooge J, Thijs L, Fagard RH, et al. Left ventricular strain and strain rate in a general population. *European heart journal*. 2008 Aug;29(16):2014-23. PubMed PMID: 18583396.
  125. Marwick TH, Leano RL, Brown J, Sun JP, Hoffmann R, Lysyansky P, et al. Myocardial strain measurement with 2-dimensional speckle-tracking echocardiography: definition of normal range. *JACC Cardiovascular imaging*. 2009 Jan;2(1):80-4. PubMed PMID: 19356538.
  126. Pislaru C, Bruce CJ, Anagnostopoulos PC, Allen JL, Seward JB, Pellikka PA, et al. Ultrasound strain imaging of altered myocardial stiffness: stunned versus infarcted reperfused myocardium. *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23):2905-10. PubMed PMID: 15173032.
  127. Kato T, Noda A, Izawa H, Nishizawa T, Somura F, Yamada A, et al. Myocardial velocity gradient as a noninvasively determined index of left ventricular diastolic dysfunction in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003 Jul 16;42(2):278-85. PubMed PMID: 12875764.
  128. Chen S, Yuan J, Qiao S, Duan F, Zhang J, Wang H. Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Global Strain Rate Imaging in Patients with Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy: A Simultaneous Speckle Tracking Echocardiography and Cardiac Catheterization Study. *Echocardiography*. 2013 Nov 13. PubMed PMID: 24219240.
  129. Ersboll M, Andersen MJ, Valeur N, Mogensen UM, Fahkri Y, Thune JJ, et al. Early diastolic strain rate in relation to systolic and diastolic function and prognosis in acute myocardial infarction: a two-dimensional speckle-tracking study. *European heart journal*. 2014 Mar;35(10):648-56. PubMed PMID: 23713080.
  130. Hsu PC, Lee WH, Chu CY, Lee CS, Yen HW, Su HM, et al. The Ratio of Early Mitral Inflow Velocity to Global Diastolic Strain Rate as a Useful Predictor of Cardiac Outcomes in Patients with Atrial Fibrillation. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2014 Apr 23. PubMed PMID: 24767973.
  131. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2005 Dec;18(12):1440-63. PubMed PMID: 16376782.
  132. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *The American journal of cardiology*. 1986 Feb 15;57(6):450-8. PubMed PMID: 2936235.
  133. Quinones MA, Otto CM, Stoddard M, Waggoner A, Zoghbi WA, Doppler Quantification Task Force of the N, et al. Recommendations for quantification of Doppler echocardiography: a report from the Doppler Quantification Task Force of the Nomenclature and Standards Committee of the American Society of Echocardiography. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2002 Feb;15(2):167-84. PubMed PMID: 11836492.
  134. Leitman M, Lysyansky P, Sidenko S, Shir V, Peleg E, Binenbaum M, et al. Two-dimensional strain-a novel software for real-time quantitative echocardiographic assessment of myocardial function. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2004 Oct;17(10):1021-9. PubMed PMID: 15452466.
  135. Reisner SA, Lysyansky P, Agmon Y, Mutlak D, Lessick J, Friedman Z. Global longitudinal strain: a novel index of left ventricular systolic function. *Journal of the American Society of*

- Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2004 Jun;17(6):630-3. PubMed PMID: 15163933.
136. Kobayashi T, Popovic Z, Bhonsale A, Smedira NG, Tan C, Rodriguez ER, et al. Association between septal strain rate and histopathology in symptomatic hypertrophic cardiomyopathy patients undergoing septal myectomy. *American heart journal*. 2013 Sep;166(3):503-11. PubMed PMID: 24016500.
  137. Tanaka M, Fujiwara H, Onodera T, Wu DJ, Hamashima Y, Kawai C. Quantitative analysis of myocardial fibrosis in normals, hypertensive hearts, and hypertrophic cardiomyopathy. *British heart journal*. 1986 Jun;55(6):575-81. PubMed PMID: 3718796. Pubmed Central PMCID: 1236764.
  138. Herrmann S, Stork S, Niemann M, Lange V, Strotmann JM, Frantz S, et al. Low-gradient aortic valve stenosis myocardial fibrosis and its influence on function and outcome. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011 Jul 19;58(4):402-12. PubMed PMID: 21757118.
  139. Maciver DH, Townsend M. A novel mechanism of heart failure with normal ejection fraction. *Heart*. 2008 Apr;94(4):446-9. PubMed PMID: 17483129.
  140. Almaas VM, Haugaa KH, Strom EH, Scott H, Smith HJ, Dahl CP, et al. Noninvasive assessment of myocardial fibrosis in patients with obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Heart*. 2014 Apr;100(8):631-8. PubMed PMID: 24368281.
  141. Gunther S, Grossman W. Determinants of ventricular function in pressure-overload hypertrophy in man. *Circulation*. 1979 Apr;59(4):679-88. PubMed PMID: 154367.
  142. Dweck MR, Joshi S, Murigu T, Gulati A, Alpendurada F, Jabbour A, et al. Left ventricular remodeling and hypertrophy in patients with aortic stenosis: insights from cardiovascular magnetic resonance. *Journal of cardiovascular magnetic resonance : official journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*. 2012;14:50. PubMed PMID: 22839417. Pubmed Central PMCID: 3457907.
  143. Cramariuc D, Cioffi G, Rieck AE, Devereux RB, Staal EM, Ray S, et al. Low-flow aortic stenosis in asymptomatic patients: valvular-arterial impedance and systolic function from the SEAS Substudy. *JACC Cardiovascular imaging*. 2009 Apr;2(4):390-9. PubMed PMID: 19580719.
  144. Cramariuc D, Gerds E, Davidsen ES, Segadal L, Matre K. Myocardial deformation in aortic valve stenosis: relation to left ventricular geometry. *Heart*. 2010 Jan;96(2):106-12. PubMed PMID: 19710026. Pubmed Central PMCID: 2802316.
  145. Takeda S, Rimington H, Smeeton N, Chambers J. Long axis excursion in aortic stenosis. *Heart*. 2001 Jul;86(1):52-6. PubMed PMID: 11410562. Pubmed Central PMCID: 1729828.
  146. Derumeaux G, Mulder P, Richard V, Chagraoui A, Nafeh C, Bauer F, et al. Tissue Doppler imaging differentiates physiological from pathological pressure-overload left ventricular hypertrophy in rats. *Circulation*. 2002 Apr 2;105(13):1602-8. PubMed PMID: 11927530.
  147. Schwartzkopff B, Motz W, Knauer S, Frenzel H, Strauer BE. Morphometric investigation of intramyocardial arterioles in right septal endomyocardial biopsy of patients with arterial hypertension and left ventricular hypertrophy. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1992;20 Suppl 1:S12-7. PubMed PMID: 1380613.
  148. Lancellotti P, Donal E, Magne J, Moonen M, O'Connor K, Daubert JC, et al. Risk stratification in asymptomatic moderate to severe aortic stenosis: the importance of the valvular, arterial and ventricular interplay. *Heart*. 2010 Sep;96(17):1364-71. PubMed PMID: 20483891.
  149. Biederman RW, Doyle M, Yamrozik J, Williams RB, Rathi VK, Vido D, et al. Physiologic compensation is supranormal in compensated aortic stenosis: does it return to normal after aortic valve replacement or is it blunted by coexistent coronary artery disease? An intramyocardial magnetic resonance imaging study. *Circulation*. 2005 Aug 30;112(9 Suppl):I429-36. PubMed PMID: 16159858.
  150. Taniguchi K, Takahashi T, Toda K, Matsue H, Shudo Y, Shintani H, et al. Left ventricular mass: impact on left ventricular contractile function and its reversibility in patients undergoing aortic valve replacement. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2007 Oct;32(4):588-95. PubMed PMID: 17689973.
  151. Yingchoncharoen T, Agarwal S, Popovic ZB, Marwick TH. Normal ranges of left ventricular strain: a meta-analysis. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2013 Feb;26(2):185-91. PubMed PMID: 23218891.

*A chi è arrivato e a chi già c'era.*

*A chi ha istruito, guidato ed insegnato.*

*A chi ha sopportato, sostenuto ed aiutato.*

*Alla fine di ogni cammino che è l'inizio di uno nuovo, quale esso sia.*

*Al peso delle scelte.*

*Al cambiamento.*

*All'essere e divenire.*