



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ - ΚΑΡΔΙΟ-ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ - ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ  
ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ»

(MSc in Heart Failure - Cardio-oncology - Cardiac Rehabilitation)



*Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία*

*«Συχνότητα ανεύρεσης γενετικού υποστρώματος μυοκαρδιοπάθειας σε ασθενείς με οξεία  
μυοκαρδίτιδα: ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και παρουσίαση δεδομένων από μελέτη της  
Μονάδας Κληρονομικών και Σπάνιων Παθήσεων της Καρδιάς του Ωνάσειου Νοσοκομείου»*

υπό

*Αγγελικής Παπαγεωργίου*

Καρδιολόγος/Επιστημονικός Συνεργάτης Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διπλώματος Μεταπτυχιακών Σπουδών

*«Καρδιακή ανεπάρκεια – Καρδιο-ογκολογία – Καρδιαγγειακή αποκατάσταση»*

Λάρισα, (Ιούνιος) 2025



**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**



**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ - ΚΑΡΔΙΟ-ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ - ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ  
ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ»**

**(MSc in Heart Failure - Cardio-oncology - Cardiac Rehabilitation)**



**«Yield of genetic cardiomyopathy in patients with acute myocarditis; review of the  
literature and insights from the registry of the Unit of Inherited and Rare Cardiovascular  
Diseases of Onassis Hospital»**

«Βεβαιώνω ότι η παρούσα διπλωματική εργασία είναι αποτέλεσμα δικής μου δουλειάς και δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής. Στις δημοσιευμένες ή μη δημοσιευμένες πηγές έχω χρησιμοποιήσει εισαγωγικά και όπου απαιτείται έχω παραθέσει τις πηγές τους στο τμήμα της βιβλιογραφίας».

Υπογραφή:

**ΑΓΓΕΛΙΚΗ ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 2024-2025

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

**ΙΩΑΝΝΗΣ ΣΚΟΥΛΑΡΙΓΚΗΣ**

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**Επιβλέπων:**

*Ξανθόπουλος Ανδρέας, Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:**

- 1. Ξανθόπουλος Ανδρέας, Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας- (Επιβλέπων)*
- 2. Τσαρούχας Κωνσταντίνος, Επιμελητής Α' Καρδιολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας*
- 3. Πάντσιος Χρήστος, Επιμελητής Β' Καρδιολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας*

**Αναπληρωματικό μέλος:**

*Γιαμούζης Γρηγόριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας, Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

**Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:**

«Yield of genetic cardiomyopathy in patients with acute myocarditis; review of the literature and insights from the registry of the Unit of Inherited and Rare Cardiovascular Diseases of Onassis Hospital»

## Ευχαριστίες

Πρωτίστως θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αναστασάκη Άρη, Αναπληρωτή Διευθυντή και Υπεύθυνο Μονάδας Κληρονομικών Παθήσεων Καρδιάς του Ωνάσειου Καρδιοχειρουργικού Κέντρου για τη δυνατότητα να συμμετάσχω στην παρούσα μελέτη. Τον ευχαριστώ θερμά για τη συμβολή του στην εκπαίδευση και επιστημονική μου εξέλιξη στο αντικείμενο των κληρονομικών καρδιαγγειακών παθήσεων.

Ευχαριστώ επίσης, τον Καθηγητή κ. Σκουλαρίγκη Ιωάννη για την ευκαιρία που μου έδωσε να παρακολουθήσω το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα «Καρδιακή Ανεπάρκεια – Καρδιο-ογκολογία – Καρδιαγγειακή Αποκατάσταση» και για την εμπειρία που αποκόμισα μέσα από αυτό. Επίσης, ευχαριστώ τον Επ. Καθηγητή κ. Ξανθόπουλο Ανδρέα που υπήρξε επιβλέπων και τον κ. Τσαρούχα Κωνσταντίνο, σύμβουλο της μεταπτυχιακής μου εργασίας για τα χρήσιμα σχόλια και την καθοδήγησή τους. Επίσης, ευχαριστώ τα μέλη της Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής για το χρόνο που αφιέρωσαν στην αξιολόγηση της παρούσης πτυχιακής εργασίας και για τα σχόλιά τους.

Ειλικρινείς ευχαριστίες, επίσης, θα ήθελα να απευθύνω στον Καθηγητή Καρδιολογίας κ. Νταβλούρο Περικλή για τη συμβολή του στην εκπαίδευση μου στην Ειδικότητα της Καρδιολογίας και τη συνεχή του υποστήριξη μέχρι σήμερα, καθώς και στον Επ. Καθηγητή κ. Λεβεντόπουλο Γεώργιο για την εκπαίδευση και την περαιτέρω εξέλιξή μου. Θερμές ευχαριστίες θέλω να εκφράσω και στο συνάδελφο καρδιολόγο κ. Παπαθεοδώρου Ευστάθιο, για την εξαιρετική συνεργασία μας και την πολύτιμη συμβολή του στη συγκεκριμένη ερευνητική προσπάθεια.

Τέλος, ευχαριστώ από καρδιάς το σύντροφο μου Σπύρο, που εκτός των άλλων με βοήθησε και στη στατιστική ανάλυση της παρούσας εργασίας, την οικογένεια και τους πολύτιμους φίλους μου για τη διαρκή τους στήριξη.

Αγγελική Παπαγεωργίου

## Σύντομο βιογραφικό

Αποφοίτησα το 2014 από την Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Πατρών και το 2018 ξεκίνησα την Ειδικότητα Καρδιολογίας στην Καρδιολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Πατρών. Έλαβα τον τίτλο Ειδικότητας της Καρδιολογίας τον 1<sup>ο</sup>/2023, ενώ είχε προηγηθεί λήψη του Ευρωπαϊκού Διπλώματος (EECC) τον 6<sup>ο</sup>/2022. Τον 1<sup>ο</sup>/2024 έλαβα το Διδακτορικό μου Δίπλωμα από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών. Από 1<sup>ο</sup>/2024-1<sup>ο</sup>/2025 εργάστηκα με υποτροφία της Ελληνικής Καρδιολογικής Εταιρείας στη Μονάδα Κληρονομικών και Σπάνιων Παθήσεων της Καρδιάς του Ωνάσειου Καρδιοχειρουργικού Κέντρου, με επιστημονικό Υπεύθυνο τον κ. Αναστασάκη και από 1<sup>ο</sup> /2025 ως μέλος του Εθνικού Δικτύου Ιατρικής Ακριβείας της Καρδιολογίας, όπου και παραμένω σε αυτή τη θέση. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχω για τον τομέα των Μυοκαρδιοπαθειών και την Αρρυθμιολογία.

Έχω συμμετάσχει στη διενέργεια των μελετών **AFFILIATE**, **OCEANIC-AF** και **GRECHO** ως Sub-investigator. Έχω 25 δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά και 5 σε ελληνικά, έχω συμμετάσχει στη συγγραφή κεφαλαίων σε 2 ιατρικά βιβλία, ενώ έχω υπάρξει κριτής σε 5 διεθνή περιοδικά. Έχω συμμετάσχει σε ελληνικά και διεθνή συνέδρια με 16 προφορικές παρουσιάσεις, 14 αναρτημένες ανακοινώσεις, ενώ σε 3 συνέδρια έχω λάβει μέρος ως σχολιάστρια.

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Η οξεία μυοκαρδίτιδα έχει πρόσφατα συσχετισθεί με την ύπαρξη γενετικού υποστρώματος μυοκαρδιοπάθειας.

**Σκοπός:** Σκοπός της μελέτης είναι να διερευνηθεί η συχνότητα εμφάνισης παθογόνου/ πιθανά παθογόνου γενετικής παραλλαγής σε γονίδιο σχετιζόμενο με μυοκαρδιοπάθεια σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα και οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου καρδιακού θανάτου.

**Μέθοδοι:** Τα δεδομένα προέρχονται από την καταγραφή της Μονάδας Κληρονομικών και Σπάνιων Παθήσεων της Καρδιάς του Ωνάσειου Νοσοκομείου στο διάστημα 2010-2024. Στη μελέτη εντάχθηκαν ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα- διαγνωσμένη με βάση τα κριτήρια της Ομάδας Εργασίας της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας για τις παθήσεις του μυοκαρδίου του 2013- που επιπλέον είχαν οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου θανάτου σε συγγενείς έως 2<sup>ου</sup> βαθμού ηλικίας < 40 ετών. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η πιθανότητα ανεύρεσης παθολογικής παραλλαγής σε γονίδιο σχετιζόμενο με μυοκαρδιοπάθεια στους ασθενείς αυτούς. Δευτερογενή σημεία ήταν η συσχέτιση του θετικού γονότυπου με τα κλινικά χαρακτηριστικά, ηλεκτροκαρδιογραφικές (ΗΚΓ) αλλοιώσεις, υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες ή το πρότυπο της ίνωσης στη μαγνητική καρδιάς.

**Αποτελέσματα:** Συνολικά 20 ασθενείς συμπεριελήφθησαν στην ανάλυση. Η διάμεση ηλικία κατά την εμφάνιση της μυοκαρδίτιδας ήταν 38 έτη, ενώ 55% ήταν γυναίκες. Η διάγνωση σε έναν ασθενή έγινε με ενδομυοκαρδιακή βιοψία, ενώ στους υπόλοιπους με συνδυασμό των διαγνωστικών στοιχείων. Παθολογική ή πιθανά παθογόνος παραλλαγή σε γονίδιο σχετιζόμενο με μυοκαρδιοπάθεια ανευρέθη σε 13 ασθενείς (65%). Ιδιαίτερα, γονίδια που έχουν συσχετισθεί με κακή πρόγνωση (συγκεκριμένα τα LMNA, DSP, RBM20) εντοπίστηκαν σε 9 από τους 13 ασθενείς με θετικό γονότυπο. Στα βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών δεν υπήρχε διαφορά. Παρ' όλο που δεν κατέστη στατιστικά σημαντικό, στους ασθενείς με θετικό γονότυπο καταγράφηκαν πιο συχνά χαμηλά δυναμικά στο ΗΚΓ (54% έναντι 29%). Το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας ήταν επίσης χαμηλότερο [διάμεσος 50 (45, 60) έναντι διάμεσος 60 (45, 65, αντίστοιχα)].

**Συμπέρασμα:** Στη μελέτη μας φάνηκε ότι σε περισσότερο από το ήμισυ των ασθενών με οξεία μυοκαρδίτιδα και οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου θανάτου ανευρίσκεται γονίδιο σχετιζόμενο με μυοκαρδιοπάθεια.

**Λέξεις - κλειδιά:** οξεία μυοκαρδίτιδα και γενετικές μυοκαρδιοπάθειες, γενετικός έλεγχος σε οξεία μυοκαρδίτιδα, οξεία μυοκαρδίτιδα και οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου θανάτου

## Abstract

**Background:** Acute myocarditis has recently been associated with the existence of a genetic background of cardiomyopathy.

**Aim:** The aim of our study is to investigate the prevalence of genes- associated with cardiomyopathy in patients with acute myocarditis and a family history of sudden cardiac death.

**Methods:** The data are derived from the registry of myocarditis of the Unit of Inherited and Rare Cardiovascular Diseases of the Onassis Hospital in the period 2010-2024. The study included patients with acute myocarditis - diagnosed based on the criteria of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial Diseases of 2013 - who also had a family history of sudden death in relatives up to 2nd degree, aged < 40 years. The primary endpoint was the rate of pathologic or likely pathogenic (P/LP) variants in genes associated with cardiomyopathy. Secondary endpoints were the association of the positive genotype with clinical features, electrocardiographic (ECG) abnormalities, echocardiographic markers or the pattern of fibrosis on cardiac magnetic resonance.

**Results:** A total of 20 patients were included in the analysis. The median age at the time of presentation was 38 years and 55% were female. The diagnosis in one patient was made by endomyocardial biopsy, while to the rest by a combination of diagnostic criteria. A P/LP associated with cardiomyopathy was found in 13 patients (65%). In particular, genes associated with poor prognosis (LMNA, DSP, RBM20) were identified in 9 of the 13 patients with a positive genotype. There was no difference in the baseline characteristics of the patients. Although it did not reach statistical significance, low voltage on the ECG was more common in patients with positive genotype (54% vs. 29%). The left ventricular ejection fraction was also lower [median 50 (45, 60) vs. median 60 (45, 65, respectively)].

**Conclusion:** In our study, it was demonstrated that more than half of the patients with acute myocarditis and a family history of sudden death had a P/LP gene variant associated with cardiomyopathy.

**Key words:** acute myocarditis and inherited cardiomyopathies, genetic testing in acute myocarditis, acute myocarditis and family history of sudden cardiac death



# Πίνακας περιεχομένων

|                                                                                                                                                                       |             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Ευχαριστίες.....                                                                                                                                                      | i           |
| Σύντομο βιογραφικό.....                                                                                                                                               | ii          |
| Περίληψη.....                                                                                                                                                         | iii         |
| Abstract .....                                                                                                                                                        | iv          |
| <b>Εισαγωγή.....</b>                                                                                                                                                  | <b>viii</b> |
| <b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>                                                                                                                                             | <b>1</b>    |
| <b>Κεφάλαιο 1 .....</b>                                                                                                                                               | <b>1</b>    |
| 1.1 Ορισμοί.....                                                                                                                                                      | 1           |
| 1.2 Επιδημιολογία .....                                                                                                                                               | 4           |
| 1.3 Αίτια μυοκαρδίτιδας .....                                                                                                                                         | 5           |
| 1.4 Παθοφυσιολογία μυοκαρδίτιδας .....                                                                                                                                | 8           |
| Ο ρόλος της κυτταρικής ανοσίας και των κυτταροκινών στη μυοκαρδίτιδα .....                                                                                            | 8           |
| 1.5 Ο γενετικός παράγοντας στην ανάπτυξη της μυοκαρδίτιδας.....                                                                                                       | 14          |
| 1.5.1 Γενετική προδιάθεση για αυτοανοσία ή ανοσολογική ευπάθεια σε λοιμογόνους ή άλλους παράγοντες.....                                                               | 14          |
| 1.5.2 Τα επεισόδια μυοκαρδιακής φλεγμονής αποτελούν μέρος της φυσικής πορείας της μυοκαρδιοπάθειας (hot phases cardiomyopathy).....                                   | 15          |
| 1.5.3 Η ύπαρξη γενετικού υποστρώματος μυοκαρδιοπάθειας, διαταράσσει την αρχιτεκτονική του μυοκαρδίου και το καθιστά πιο ευάλωτο σε λοιμώξεις (second hit theory)..... | 18          |
| 1.6 Υπάρχοντα κλινικά δεδομένα σχετικά με την ύπαρξη γονιδίων μυοκαρδιοπάθειας σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα.....                                                       | 19          |
| 1.6.1 Προτεινόμενος αλγόριθμος για τη διενέργεια γενετικού ελέγχου σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα.....                                                                   | 19          |
| 1.6.2 Κλινική εικόνα μυοκαρδίτιδας ανάλογα με το γενετικό υπόστρωμα.....                                                                                              | 20          |
| 1.6.3 Εκβάσεις ασθενών με μυοκαρδίτιδα με θετικό γονότυπο έναντι αυτών με αρνητικό γονότυπο .....                                                                     | 21          |
| 1.6.4 Στοιχεία από το οικογενειακό ιστορικό ως σημείο κινδύνου για τη διενέργεια γενετικού ελέγχου .....                                                              | 22          |
| 1.6.5 Η κλινική σημασία του γενετικού ελέγχου σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα .....                                                                                 | 23          |
| <b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>                                                                                                                                             | <b>26</b>   |

|                                                                          |           |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Κεφάλαιο 2 .....</b>                                                  | <b>26</b> |
| 2.1 Σκοπός .....                                                         | 26        |
| 2.2 Μεθοδολογία.....                                                     | 26        |
| 2.2.1 Πληθυσμός της μελέτης.....                                         | 26        |
| 2.2.2 Καταληκτικά σημεία.....                                            | 26        |
| 2.2.3 Στατιστική ανάλυση.....                                            | 27        |
| <b>Κεφάλαιο 3 .....</b>                                                  | <b>27</b> |
| 3.1 Αποτελέσματα.....                                                    | 27        |
| 3.1.1 Βασικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού .....                          | 27        |
| 3.1.2 Συχνότητα ανεύρεσης γονιδίου σχετιζόμενου με μυοκαρδιοπάθεια ..... | 28        |
| 3.1.3 Κατανομή γονιδίων στους ασθενείς με θετικό γονότυπο .....          | 30        |
| <b>Κεφάλαιο 4 .....</b>                                                  | <b>34</b> |
| 4.1 Συζήτηση .....                                                       | 34        |
| 4.2 Περιορισμοί μελέτης .....                                            | 37        |
| <b>Κεφάλαιο 5 .....</b>                                                  | <b>38</b> |
| 5.1 Συμπεράσματα .....                                                   | 38        |
| 5.2 Προτάσεις .....                                                      | 38        |
| <b>Βιβλιογραφία.....</b>                                                 | <b>39</b> |
| <b>Κατάλογος Πινάκων.....</b>                                            | <b>46</b> |
| <b>Κατάλογος Εικόνων .....</b>                                           | <b>47</b> |

## Εισαγωγή

Η μυοκαρδίτιδα είναι μια φλεγμονώδης νόσος του μυοκαρδίου με ποικίλη κλινική εικόνα και αιτιολογία. Τα πιο συνήθη αίτια είναι ιώσεις, τοξίνες, φάρμακα, συστηματικές φλεγμονώδεις νόσοι και η ανώμαλη απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος (εμβόλια, ογκολογικές θεραπείες). Πρόσφατα, μελέτες παρατήρησης αναφέρουν σε περίπου 15% των περιπτώσεων μυοκαρδίτιδας την παρουσία παθογόνου παραλλαγής σε γονίδιο σχετιζόμενο με μυοκαρδιοπάθεια.

Η υπόθεση είναι ότι τα επεισόδια μυοκαρδιακής φλεγμονής (μυοκαρδίτιδα) αποτελούν μέρος της φυσικής πορείας της μυοκαρδιοπάθειας (hot phases cardiomyopathy) ή ακόμα ότι η ύπαρξη γενετικού υποστρώματος μυοκαρδιοπάθειας, διαταράσσει την αρχιτεκτονική του μυοκαρδίου και το καθιστά πιο ευάλωτο σε λοιμώξεις (second hit theory). Χαρακτηριστικό παράδειγμα της πρώτης υπόθεσης είναι η αρρυθμογόνος μυοκαρδιοπάθεια (arrhythmogenic cardiomyopathy, ACM), χάρη στην οποία έγινε και η αρχική συσχέτιση μυοκαρδίτιδας και μυοκαρδιοπάθειας. Οι «θερμές φάσεις» αποτελούν οξεία επεισόδια προκάρδιου άλγους, με αυξημένα καρδιακά ένζυμα ή/και κοιλιακή αρρυθμογένεια, τα οποία τελικά συνοδεύονται από επιδείνωση της πρότερης κατάστασης. (1) Σε σχέση με τη θεωρία του «δεύτερου χτυπήματος» σε πειραματικό μοντέλο με έλλειψη δυστροφίνης φάνηκε ότι η λοίμωξη από εντεροϊό συνοδεύτηκε από σοβαρή μυοκαρδιοπάθεια, διαρκώς επιδεινούμενη, χαρακτηριζόμενη από υψηλότερα επίπεδα υϊκής αναπαραγωγής σε σχέση με το φυσιολογικό πληθυσμό. (2)

Η κλινική σημασία της ανεύρεσης γονιδίου σχετιζόμενου με μυοκαρδιοπάθεια σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα είναι σημαντική, καθώς μπορεί να επιτρέψει στρατηγικές πρώιμης παρέμβασης, όπως την απόφαση για εμφύτευση απινιδωτή, να υπαγορεύσει ειδικές θεραπείες και σημαντικότερο μπορεί να αποτελέσει αφορμή για εντοπισμό ασυμπτωματικών φορέων, με αποτέλεσμα την αποφυγή ανεπιθύμητων συμβαμάτων. Στην εποχή της Ιατρικής Ακριβείας, η αναγνώριση γενετικού υποστρώματος μυοκαρδιοπάθειας, αποκτά ιδιαίτερη σημασία υπό το πρίσμα και του προεμφυτευτικού ελέγχου.

Με βάση τα δεδομένα από τις μελέτες που θα αναφερθούν και στη συνέχεια, στην πρόσφατη συμφωνία ειδικών του Αμερικάνικου Κολλεγίου Καρδιολογίας του 2024 για τη μυοκαρδίτιδα συστήνεται ο γενετικός έλεγχος. Σημειώνεται ότι επί περιορισμένων πόρων,

προτείνεται πρωτίστως στους ασθενείς με υποτροπιάζουσα μυοκαρδίτιδα ή ισχυρό οικογενειακό ιστορικό μυοκαρδιοπάθειας. (3)

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εξετάσει στην καταγραφή του κέντρου αναφοράς-Μονάδα Κληρονομικών και Σπάνιων Παθήσεων του Ωνάσειου Νοσοκομείου, τη συχνότητα εμφάνισης γενετικού υποστρώματος μυοκαρδιοπάθειας σε περιπτώσεις οξείας μυοκαρδίτιδας, όταν συνυπάρχει οικογενειακό ιστορικό μυοκαρδιοπάθειας ή αιφνίδιου καρδιακού θανάτου.

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## Κεφάλαιο 1

### 1.1 Ορισμοί

Σύμφωνα με τον ορισμό του 1995 της Ομάδας για τις Μυοκαρδιοπάθειες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, μυοκαρδίτιδα είναι μια φλεγμονώδης μυοκαρδιοπάθεια που συνοδεύεται από καρδιακή δυσλειτουργία, η διάγνωση της οποίας τίθεται με ενδομυοκαρδιακή βιοψία (EMB) σύμφωνα με καθιερωμένα ιστολογικά, ανοσολογικά και ανοσοϊστοχημικά κριτήρια. (4) Αργότερα, με την εισαγωγή νέων μη επεμβατικών μεθόδων, όπως της μαγνητικής τομογραφίας καρδιάς και της τροπονίνης υψηλής ευαισθησίας, ο διαγνωστικός αλγόριθμος εμπλουτίζεται και το 2013 σύμφωνα με την Έκθεση της Ομάδας Εργασίας της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας (European Society of Cardiology, ESC) για τις παθήσεις του μυοκαρδίου και του περικαρδίου, η διάγνωση της μυοκαρδίτιδας τίθεται σε ασθενείς που έχουν κλινική εικόνα προκάρδιου άλγους ή αρρυθμιών ή καρδιακής ανεπάρκειας/ καρδιογενούς καταπληξίας και παρουσιάζουν  $\geq 1$  διαγνωστικά κριτήρια, όπως παρατίθενται στον **Πίνακα 1**. (5) Επί απουσίας κλινικών συμπτωμάτων, η διάγνωση τίθεται εφόσον υπάρχουν  $\geq 2$  διαγνωστικά κριτήρια. Να σημειωθεί ότι η διάγνωση της μυοκαρδίτιδας προϋποθέτει τον αποκλεισμό σημαντικής στεφανιαίας νόσου, άλλης γνωστής καρδιοπάθειας ή άλλων εξωκαρδιακών ανωμαλιών (όπως υπερθυρεοειδισμός) που μπορεί να μιμηθούν την εικόνα. (5)

**Πίνακας 1.** Διαγνωστικά κριτήρια για κλινική υποψία μυοκαρδίτιδας. (5)

#### Κλινικές εκδηλώσεις<sup>a</sup>

- Οξύς θωρακικός πόνος, περικαρδιακού τύπου ή συμπτώματα μιμούμενα ισχαιμία
- Νεοεμφανιζόμενη (διάρκειας έως 3 μηνών) ή επιδεινούμενη δύσπνοια σε ηρεμία ή κατά την άσκηση, κόπωση, με ή χωρίς σημεία καρδιακής ανεπάρκειας αριστερής ή/και δεξιάς κοιλίας
- Υποξεία/ χρόνια (>3 μηνών) ή επιδεινούμενη δύσπνοια σε ηρεμία ή κατά την άσκηση, κόπωση, με ή χωρίς σημεία καρδιακής ανεπάρκειας αριστερής ή/και δεξιάς κοιλίας
- Αίσθημα παλμών ή ανεξήγητα συμπτώματα σχετιζόμενα με αρρυθμίες ή συγκοπή, ή αποτραπείς αιφνίδιος καρδιακός θάνατος
- Ανεξήγητη καρδιογενής καταπληξία

## Διαγνωστικά κριτήρια

### I. Χαρακτηριστικά από ΗΚΓ/Holter/δοκιμασία κόπωσης

Νεοεμφανιζόμενα παθολογικά ευρήματα σε 12-απαγωγικό ΗΚΓ ή Holter ή δοκιμασία κόπωσης, οποιοδήποτε από τα παρακάτω:

- Κολποκοιλιακός αποκλεισμός βαθμού I έως III ή αποκλεισμός σκέλους
- Διαταραχές κυμάτων ST/T (ανάσπαση ή κατάσπαση ST, αναστροφή κυμάτων T), μείωση δυναμικών κυμάτων R, παθολογικά κύματα Q, χαμηλά δυναμικά, διεύρυνση συμπλέγματος QRS
- Φλεβοκομβική παύση, ασυστολία
- Κοιλιακή ταχυκαρδία ή μαρμαρυγή
- Κολπική μαρμαρυγή, υπερκοιλιακή ταχυκαρδία
- Εκτακτοσυστολική αρρυθμία

### II. Δείκτες μυοκαρδιακής βλάβης

- Αυξημένη τροπονίνη T ή τροπονίνη I (TnT/TnI)

### III. Λειτουργικές και δομικές διαταραχές στην απεικόνιση της καρδιάς (υπερηχοκαρδιογράφημα/στεφανιογραφία/μαγνητική καρδιάς)

Πρωτοεμφανιζόμενες, δομικές και λειτουργικές διαταραχές της αριστερής ή δεξιάς κοιλίας που δεν μπορούν να αποδοθούν σε άλλο αίτιο (συμπεριλαμβανομένων τυχαίων ευρημάτων σε φαινομενικά ασυμπτωματικά άτομα):

- Εντοπισμένη ή γενικευμένη διαταραχή της συστολικής ή διαστολικής λειτουργίας με +/- διάταση των κοιλιών, +/- αύξηση του πάχους των τοιχωμάτων, +/- περικαρδιακή συλλογή, +/- ύπαρξη ενδοκοιλιακών θρόμβων

### IV. Ιστολογικά χαρακτηριστικά με Μαγνητική Τομογραφία Καρδιάς

- Οίδημα ή/και όψιμη ενίσχυση γαδολινίου (LGE) με κλασικό πρότυπο μυοκαρδίτιδας

### Σημείωση:

Η κλινικά ύποπτη μυοκαρδίτιδα τεκμηριώνεται, εφόσον υπάρχει  $\geq 1$  κλινική εκδήλωση και  $\geq 1$  διαγνωστικό κριτήριο από διαφορετικές κατηγορίες, απουσία:

- (1) στεφανιογραφικά επιβεβαιωμένης στεφανιαίας νόσου (στένωση  $\geq 50\%$ ),
- (2) γνωστής προϋπάρχουσας καρδιαγγειακής νόσου ή εξωκαρδιακών αιτιών που μπορούν να εξηγήσουν το σύνδρομο (όπως βαλβιδοπάθειες, συγγενείς καρδιοπάθειες, υπερθυρεοειδισμός)

- Η υποψία αυξάνεται με τον αριθμό των κριτηρίων που πληρούνται
- \*Εάν ο ασθενής είναι ασυμπτωματικός, πρέπει να πληρούνται  $\geq 2$  διαγνωστικά κριτήρια

(Ανατύπωση από: Caforio ALP, Pankuweit S, Arbustini E, Basso C, Gimeno-Blanes J, Felix SB, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: A position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. Eur Heart J. 2013)

Πρόσφατα, για τη διάγνωση της μυοκαρδίτιδας που σχετίζεται με τον κορονοϊό Covid-19 ή με τον εμβολιασμό έναντι αυτού, χρησιμοποιήθηκαν τα διαγνωστικά κριτήρια των Κέντρων

Ελέγχου Νόσου και Πρόληψης και το Brighton Collaboration. (6) Σύμφωνα με αυτά, προτείνονται 3 επίπεδα υποψίας για τη μυοκαρδίτιδα από εμβολιασμό έναντι του Covid-19. Για το επίπεδο 1, απόλυτης βεβαιότητας απαιτείται ιστοπαθολογική ένδειξη μυοκαρδιακής φλεγμονής ή συνδυασμός αυξημένων βιοδεικτών και παθολογικής απεικόνισης (μαγνητική τομογραφία καρδιάς ή υπερηχοκαρδιογραφία). Εάν ο ασθενής έχει συμβατά συμπτώματα και 1 παθολογική εξέταση: αυξημένους βιοδείκτες, ηλεκτροκαρδιογραφικά (ΗΚΓ) ευρήματα (παροξυσμική ή εμμένουσα ταχυκαρδία, κολποκοιλιακό αποκλεισμό, νέο αποκλεισμό σκέλους του His), υπερηχογραφικές διαταραχές [διαταραχή κινητικότητας τοιχωμάτων, μειωμένο κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας (left ventricular ejection fraction, LVEF), διάταση κοιλίων, ή αλλαγή στο πάχος του τοιχώματος)] ή ευρήματα στη μαγνητική καρδιάς- επί απουσίας εναλλακτικής διάγνωσης για τα συμπτώματα- τότε χαρακτηρίζεται πολύ πιθανή. Τέλος, η παρουσία συμπτωμάτων είτε με την παρουσία αυξημένων δεικτών φλεγμονής [C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), ταχύτητα καθίζησης ερυθρών ή δ- διμερή] ή λιγότερο σοβαρών ΗΚΓ αλλαγών (ανάσπαση του ST-διαστήματος, αναστροφή του κύματος T, πρωτοεμφανιζόμενη μείωση των δυναμικών του κύματος R, παθολογικά κύματα Q, πρώιμες κολπικές και κοιλιακές συστολές) ταξινομούνταν ως πιθανή μυοκαρδίτιδα. Παρόμοια βαθμονόμηση για τη διάγνωση της μυοκαρδίτιδας χρησιμοποιείται και για τους ασθενείς με καρκίνο. (7)

Η πιο πρόσφατη ταξινόμηση της μυοκαρδίτιδας του 2024 από το Αμερικάνικο Κολλέγιο της Καρδιολογίας διακρίνει 4 στάδια (**Εικόνα 1**). (3) Το στάδιο Α περιλαμβάνει ασθενείς σε κίνδυνο για εμφάνιση μυοκαρδίτιδας, όπως ασθενείς που λαμβάνουν καρδιοτοξικούς παράγοντες, με ιογενείς λοιμώξεις, γενετική προδιάθεση, αυτοάνοσες παθήσεις, μετά από εμβολιασμούς, προηγηθέν επεισόδιο μυοκαρδίτιδας ή υπερηωσινοφιλία. (3) Το στάδιο Β αφορά ασυμπτωματικούς ασθενείς με ιστοπαθολογική ένδειξη μυοκαρδίτιδας ή ευρήματα από τη μαγνητική καρδιάς ή αυξημένη τροπονίνη υψηλής ευαισθησίας με επιπλέον υποστηρικτικά στοιχεία. (3) Το στάδιο C περιλαμβάνει τους συμπτωματικούς ασθενείς με ιστοπαθολογική ένδειξη μυοκαρδίτιδας ή ευρήματα από τη μαγνητική καρδιάς σύμφωνα με τα επικαιροποιημένα Lake Louise κριτήρια [ένα T1 κριτήριο: αυξημένος T1 κατά την T1 χαρτογράφηση, μη ισχαιμική ενίσχυση γαδολινίου (late gadolinium enhancement, LGE), αυξημένος εξωκυττάριος όγκος (extracellular volume, ECV) και ένα T2 κριτήριο: αυξημένος T2 στην T2 χαρτογράφηση ή αυξημένος T2 στην απεικόνιση T2-weighted] ή αυξημένη τροπονίνη υψηλής ευαισθησίας με επιπλέον υποστηρικτικά στοιχεία, ενώ το στάδιο D αφορά ασθενείς με προχωρημένη

μυοκαρδίτιδα που πληρούν τα κριτήρια του σταδίου C και επιπλέον παρουσιάζουν αιμοδυναμική αστάθεια που απαιτεί ινότροπα ή προσωρινές συσκευές υποβοήθησης της καρδιάς ή παρουσιάζουν ηλεκτρική αστάθεια που υπαγορεύει παρέμβαση. (3)

**Εικόνα 1.** Το φάσμα της μυοκαρδίτιδας σε 4 στάδια σύμφωνα με Αμερικάνικο Κολλέγιο Καρδιολογίας.

| Στάδιο A<br>Σε κίνδυνο για<br>μυοκαρδίτιδα                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Στάδιο B<br>Ασυμπτωματική<br>μυοκαρδίτιδα                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Στάδιο C<br>Συμπτωματική<br>μυοκαρδίτιδα                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Στάδιο D<br>Προχωρημένη<br>μυοκαρδίτιδα                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ασθενείς σε κίνδυνο για μυοκαρδίτιδα, χωρίς συμπτώματα ή διάγνωση μυοκαρδίτιδας, χωρίς δομικές, απεικονιστικές, ιστοπαθολογικές ενδείξεις μυοκαρδίτιδας, χωρίς αυξημένους βιοδείκτες</li> <li>• Καρδιοτοξικοί παράγοντες, όπως: <ul style="list-style-type: none"> <li>ο Αναστολείς σημείων ελέγχου</li> <li>ο Ιογενείς λοιμώξεις</li> <li>ο Αυτοάνοσες παθήσεις</li> <li>ο Θύμωμα</li> <li>ο Εμβόλια</li> <li>ο Γενετική προδιάθεση</li> <li>ο Προηγούμενο επεισόδιο μυοκαρδίτιδας</li> <li>ο Υπερηωσινοφιλία</li> </ul> </li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ασθενείς με παράγοντες κινδύνου για μυοκαρδίτιδα, χωρίς τυπικά συμπτώματα, αλλά με: <ul style="list-style-type: none"> <li>ο Ιστοπαθολογία συμβατή με μυοκαρδίτιδα ή</li> <li>ο Ευρήματα στη μαγνητική καρδιάς συμβατά με μυοκαρδίτιδα ή</li> <li>ο Αυξημένα επίπεδα τροπονίνης υψηλής ευαισθησίας με επιπλέον υποστηρικτικά στοιχεία</li> </ul> </li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ασθενείς με τυπικά συμπτώματα οξείας μυοκαρδίτιδας <b>ΚΑΙ</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>ο Ιστοπαθολογία συμβατή με οξεία μυοκαρδίτιδα ή</li> <li>ο Ευρήματα μαγνητικής συμβατά με μυοκαρδίτιδα σύμφωνα με τα αναθεωρημένα κριτήρια Lake Louise (2018) ή</li> <li>ο Αυξημένα επίπεδα τροπονίνης υψηλής ευαισθησίας με επιπλέον υποστηρικτικά στοιχεία</li> </ul> </li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Πληρούνται τα κριτήρια για το στάδιο C <b>ΚΑΙ</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>ο Αιμοδυναμική αστάθεια που απαιτεί ινότροπα ή</li> <li>ο Παροδική υποστήριξη της κυκλοφορίας ή</li> <li>ο Ηλεκτρική αστάθεια που απαιτεί παρέμβαση</li> </ul> </li> </ul> |

\* Το επίπεδο των επιπλέον υποστηρικτικών στοιχείων εξαρτάται από την κλινική εικόνα, συμπεριλαμβανόμενου και του παράγοντα κινδύνου που επέδρασε στο στάδιο A. (Ανατύπωση από: Aggarwal NR, Caforio ALP, Eyk JE Van, Bates K, Erwin JP. 2024 ACC Expert Consensus Decision Pathway on Strategies and Criteria for the Diagnosis and Management of Myocarditis. 2025).

## 1.2 Επιδημιολογία

Πριν την πανδημία του Covid-19, η εκτιμώμενη παγκόσμια επίπτωση της μυοκαρδίτιδας ήταν 1 -10 περιπτώσεις ανά 100000 ανθρωποέτη. (8) Υψηλότερο κίνδυνο διέτρεχαν άτομα μεταξύ 20-40 ετών και κυρίως άνδρες. Στην ομάδα ηλικιών 35-39 έτη, ο ρυθμός ήταν 6.1 περιπτώσεις

ανά 100000 άνδρες και 4.4 ανά 100000 γυναίκες, με παρόμοια ποσοστά στο φάσμα ηλικιών 20 με 44 ετών. (9) Η αυξανόμενη χρήση της μαγνητικής καρδιάς οδήγησε σε σταδιακή αύξηση των αναφερόμενων περιστατικών στις ΗΠΑ, με επίπτωση από 9.5- 14.4 περιπτώσεις ανά 100000 άτομα. (10)

Η επίπτωση της μυοκαρδίτιδας έχει μελετηθεί εκτενώς σε συγκεκριμένους πληθυσμούς. Σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια η επίπτωση της κυμαίνεται μεταξύ 0.5- 4.0% ανάλογα με την περιοχή και την ηλικία, (8) ενώ φτάνει έως και 3% (μαζί με περικαρδίτιδα) στα άτομα που αιτιώνται προκάρδιο άλγος σε Τμήματα Επειγόντων Περιστατικών. (11) Επίσης, περίπου το 1/3 των ασθενών που είχαν διαγνωσθεί με έμφραγμα του μυοκαρδίου χωρίς αποφρακτική στεφανιαία νόσο (myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries, MINOCA), βρέθηκε με τη μαγνητική τομογραφία καρδιάς ότι πάσχει από μυοκαρδίτιδα. Μελέτες αιφνίδιου καρδιακού θανάτου αναδεικνύουν τη μυοκαρδίτιδα ως αίτιο σε 2-12% (12), (13), ενώ στον υποπληθυσμό των νεαρών αθλητών αντιπροσωπεύει 2-9% του αιφνίδιου καρδιακού θανάτου. (14) Η επίπτωση της μυοκαρδίτιδας σε ογκολογικούς ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία με αναστολείς των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος (immune checkpoint inhibitors, ICI) κυμαίνεται στο 1.14%. (15) Κατά τη διάρκεια της επιδημίας Covid-19 η επίπτωση της μυοκαρδίτιδας αυξήθηκε σε 150- 4000 ανά 100000 άτομα, ενώ η μυοκαρδίτιδα/ περικαρδίτιδα σχετιζόμενη με τον εμβολιασμό έναντι του Covid-19 παρουσίασε διακύμανση ανάλογα με τον αριθμό των εμβολιασμών και το είδος του εμβολίου με τα υψηλότερα επίπεδα να καταγράφονται με το Moderna mRNA, με συνολική επίπτωση περίπου 10 ανά 100000 και περίπου 50 ανά 100000 σε άνδρες νεαρότερους των 40 ετών. (16)

### **1.3 Αίτια μυοκαρδίτιδας**

Η αιτιοπαθογένεση της μυοκαρδίτιδας είναι πολύπλοκη με κύρια αίτια τις ιογενείς λοιμώξεις, τοξικούς παράγοντες ή διαμεσολαβούμενη από διαταραχές αυτοάνοσης αρχής. (5)

#### **Λοιμώδης μυοκαρδίτιδα**

Η μυοκαρδίτιδα μπορεί να προκληθεί από διάφορους λοιμώδεις παράγοντες, με τους ιούς να αντιπροσωπεύουν την πλειοψηφία στις χώρες του δυτικού κόσμου. (5) Εντούτοις, μπορεί να προκύψει και από βακτήρια ή παράσιτα, ιδίως σε περιοχές της Κεντρικής και Νότιας Αμερικής

όπου υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης παρουσιάζει η νόσος Chagas, η οποία προκαλείται από το πρωτόζωο *Trypanosoma Cruzi*. (17)

Η ιογενής μυοκαρδίτιδα μπορεί να κατηγοριοποιηθεί με βάση το κύτταρο-στόχο κάθε ιού (τροπισμός). Οι αδενοϊοί και οι εντεροϊοί είναι κυρίως καρδιοτρόποι, στοχεύουν δηλαδή άμεσα το μυοκάρδιο, ενώ άλλοι όπως ο παρβοϊός B19 (PVB19) είναι αγγειοτρόποι και μπορεί να επιμεινούν δια βίου. Άλλοι ιοί που στοχεύουν το λεμφικό σύστημα συμπεριλαμβανομένου του κυτταρομεγαλοϊού (CMV) και του ιού Epstein-Barr (EBV) και ορισμένα στελέχη όπως η γρίπη Α και Β μπορούν να ασκήσουν επίσης καρδιοτοξικές επιδράσεις στο μυοκάρδιο. (18) Η ακριβής διάγνωση της ιογενούς μυοκαρδίτιδας σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να είναι κρίσιμης σημασίας και δε θα πρέπει να βασίζεται μόνο στους ορολογικούς δείκτες του περιφερικού αίματος (που συχνά μπορεί να μην είναι αξιόπιστοι ως προς το χρόνο της λοίμωξης), αλλά και σε αντίδραση πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR) του μυοκαρδιακού ιστού. (18) Δεδομένης της πολυπλοκότητας των ιογενών λοιμώξεων, οι στρατηγικές θεραπείας πρέπει να είναι διεπιστημονικές και απαιτούν στενή συνεργασία με λοιμωξιολόγους, ώστε να εξασφαλίζεται εξατομικευμένη θεραπεία, ειδικά σε περιπτώσεις με χρόνιες ή υποτροπιάζουσες λοιμώξεις.

#### **Από τοξικές- φαρμακευτικές ουσίες**

Η μυοκαρδίτιδα από τοξικούς παράγοντες αποτελεί μειοψηφία, και μπορεί να εμφανιστεί είτε ως μυοκαρδίτιδα από υπερευαισθησία, η οποία δεν σχετίζεται με τη δόση του φαρμάκου, είτε ως δοσοεξαρτώμενη άμεση καρδιοτοξικότητα. Σε αυτές τις λιγότερο συχνές αιτίες ανήκει η μεσαλαζίνη, μια καθιερωμένη θεραπεία πρώτης γραμμής για τη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου και βασική θεραπεία για την ήπια έως μέτρια ελκώδη κολίτιδα. (19) Ενώ η μεσαλαζίνη έχει συσχετιστεί με μυοκαρδίτιδα, με αναφερόμενη επίπτωση έως και 0,3% και δυνητικά θανατηφόρα αποτελέσματα, δεδομένα από μια μονοκεντρική μελέτη και μια βιβλιογραφική ανασκόπηση υποδηλώνουν ότι, ελλείψει EMB, η πραγματική επίπτωση μπορεί να υπερεκτιμάται. (20)

Παθολογική αντίδραση του ανοσοποιητικού με αποτέλεσμα τη μυοκαρδίτιδα, μπορεί να πυροδοτηθεί από την άμεση τοξική δράση κάποιου παράγοντα, όπως στην περίπτωση της μυοκαρδίτιδας από τους ICIs, γεγονός που δικαιολογεί ιδιαίτερη προσοχή λόγω της σχετικής νοσηρότητας και θνησιμότητας. (21) Την τελευταία δεκαετία, οι ICIs έχουν σημαντικά θεραπευτικά αποτελέσματα σε ασθενείς με καρκίνο. Ωστόσο, μπορούν να προκαλέσουν ένα ευρύ φάσμα δυνητικά απειλητικών για τη ζωή ανεπιθύμητων ενεργειών που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό, συμπεριλαμβανομένης της κεραυνοβόλου μυοκαρδίτιδας.

## Ο ρόλος της αυτοανοσίας στη μυοκαρδίτιδα

Ο ρόλος της αυτοανοσίας στη μυοκαρδίτιδα είναι καλά τεκμηριωμένος, και μπορεί να εμφανιστεί είτε μετά από προηγούμενη λοίμωξη ως βλάβη του μυοκαρδίου διαμεσολαβούμενη από παθολογική ανοσολογική απόκριση είτε ως πρωταρχική αυτοάνοση διεργασία που έχει ως όργανο-στόχο το μυοκάρδιο. (5) Επιπλέον, μη λοιμώδης αυτοάνοση μυοκαρδίτιδα μπορεί να εμφανιστεί στα πλαίσια συστηματικών, αυτοάνοσων ή αυτοφλεγμονωδών, νοσημάτων που επηρεάζουν τουλάχιστον δύο όργανα-στόχους, όπως ο συστηματικά ερυθρεματοειδής λύκος, ρευματοειδής αρθρίτιδα, συστηματική σκλήρυνση και μυκτική νόσος του συνδετικού ιστού. (22) Η μυοκαρδίτιδα στα πλαίσια των αυτοάνοσων νοσημάτων, συχνά σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση και απαιτεί επιθετική ανοσοκατασταλτική θεραπεία. (22)

Ο ρόλος της χυμικής ανοσίας είναι καλά τεκμηριωμένος στην αυτοάνοση μυοκαρδίτιδα με τις πρώτες μελέτες ήδη από τα τέλη της δεκαετίας του 1980 να αναφέρουν την παρουσία αντικαρδιακών αυτοαντισωμάτων (AHAs) σε περιπτώσεις οξείας και χρόνιας μυοκαρδίτιδας ή διατακτικής μυοκαρδιοπάθειας (dilated cardiomyopathy, DCM). (23), (24) Αυτοί οι βιοδείκτες είναι παρόντες στο 60-80% των ασθενών με επιβεβαιωμένη από βιοψία αυτοάνοση μυοκαρδίτιδα με ποικίλη κλινική εκδήλωση, συμπεριλαμβανομένης της κεραυνοβόλου, οξείας, υποξείας, χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας, ψευδοεμφράγματος και αρρυθμιογένειας, ενώ η παρουσία τους συσχετίζεται με κακή πρόγνωση. (25) Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι η ανεύρεση τους σε ασυμπτωματικούς συγγενείς ασθενών με ιδιοπαθή DCM, θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως προγνωστικός δείκτης για την ανάπτυξη της νόσου. (26) Τα αντιγόνα AHA είναι οι α και β ισομορφές της βαριάς αλυσού της μυοσίνης και επομένως θεωρούνται καρδιοειδικά αυτοαντιγόνα. (27)

Τα AHA και τα αυτοαντισώματα έναντι των παρεμβαλλόμενων δίσκων (AIDAs) χρησιμεύουν ως ειδικοί δείκτες ανοσο-μεσολαβούμενης μυοκαρδιακής βλάβης και στο πλαίσιο των συστηματικών φλεγμονωδών νοσημάτων, όπως στη συστηματική σκλήρυνση (28) και τη σαρκοείδωση με καρδιακή συμμετοχή. (29) Άλλοι δείκτες αυτοανοσίας, όπως τα αντισώματα έναντι της δεσμογλεΐνης-2, έχουν παρατηρηθεί στη μυοκαρδίτιδα και σε άλλες καρδιακές ή μη ανοσολογικές οντότητες. Αυτοί οι βιοδείκτες συνδέονται με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά της νόσου, έχουν προγνωστική αξία, ενώ πιθανά συμβάλλουν και στην παθογένεση της νόσου. (29), (30)

## 1.4 Παθοφυσιολογία μυοκαρδίτιδας

### Ο ρόλος της κυτταρικής ανοσίας και των κυτταροκινών στη μυοκαρδίτιδα

Τα τελευταία χρόνια, η έρευνα έχει αναδείξει ότι τα μονοπάτια της φλεγμονής εμπλέκονται σε όλο και περισσότερες νόσους. Μια τέτοια σχέση μεταξύ φλεγμονής και μυοκαρδιοπάθειων αναδεικνύεται σε πρόσφατα δεδομένα. Στη συνέχεια, αναφέρονται βασικές πλευρές της παθοφυσιολογίας της μυοκαρδίτιδας, καθώς η κατανόηση σε κυτταρικό επίπεδο, μπορεί να ανοίξει τους ορίζοντες για κλινικές συσχετίσεις της φλεγμονής με τις μυοκαρδιοπάθειες ή άλλες καρδιακές παθολογίες.

Τα μυοκαρδιακά κύτταρα αντιπροσωπεύουν το κυρίαρχο κυτταρικό στοιχείο στην καρδιά, ωστόσο πολλά άλλα είδη κυττάρων ενδημούν και εξασφαλίζουν ομαλή καρδιακή λειτουργία. Μεταξύ αυτών, περιλαμβάνονται και κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος, όπως τα μακροφάγα. Τα μονοκύτταρα που απαντούν είναι κυρίως CX3CR1+ εμβρυολογικής προέλευσης και βρίσκονται σε επαφή με τα γειτνιάζοντα μυοκαρδιακά κύτταρα. (31) Σε περιπτώσεις καρδιακής δυσλειτουργίας τα μυοκαρδιακά κύτταρα εκκρίνουν χημειοκίνες που προσελκύουν τα μονοκύτταρα. (31) Αυτά με τη σειρά τους διαφοροποιούνται σε CCR2+ μακροφάγα, που έχουν προφλεγμονώδη δράση και ανιχνεύονται κατά την EMB ασθενών με μυοκαρδίτιδα. (32) Σε πειραματικά μοντέλα αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας, η κινητική διήθησης των κλασικών μονοκυττάρων, που συμβάλλουν στο σύμπλεγμα μακροφάγων CCR2+MHCII+, κορυφώνεται στις 14 ημέρες της ανοσοποίησης, ενώ τα μη κλασικά μονοκύτταρα κορυφώνονται στις 21 ημέρες. (33), (34) Αυτή η διπλή στρατολόγηση μονοκυττάρων CD11b+ έχει ως συνέπεια από τη μία ένα ισχυρό προφλεγμονώδες σήμα στην πρώτη κορυφή, όμως ταυτόχρονα και καταστολή των ειδικών για τη βαριά άλυσο της μυοσίνης (myosin heavy chain, MYHC) αποκρίσεων των Th17 T κυττάρων στη δεύτερη κορυφή μέσω μιας περιοριστικής αρνητικής ανάδρασης που υπαγορεύεται από την IFN- $\gamma$ . (34) Τα αυτοαντιδραστικά T κύτταρα στρατολογούν μονοκύτταρα είτε άμεσα, όπως στην περίπτωση των κυττάρων Th17, είτε μέσω έκκρισης IL-3, η οποία επάγει την παραγωγή χημειοκινών από τα ιστικά μακροφάγα που προσελκύουν μονοκύτταρα. (33), (34) Πρόσφατα, βρέθηκε ότι η στρατολόγηση μονοκυττάρων μπορεί να παρεμποδιστεί στην αυτοάνοση μυοκαρδίτιδα με τη «σίγαση» του CCR2 από μικρά παρεμβαλλόμενα RNA (short interference RNA, siRNA), οδηγώντας σε μείωση της φλεγμονής του μυοκαρδίου. (32)

Στην έναρξη και την εξέλιξη της μυοκαρδίτιδας συμμετέχουν και άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως τα κοκκιοκύτταρα. Οι εξωκυττάριες «παγίδες» των

ουδετερόφιλων (neutrophil extracellular traps, NETs) έχουν εντοπιστεί σε δείγματα EMB ασθενών με αυτοάνοση μυοκαρδίτιδα και σε πειραματικά μοντέλα, ενώ η αναστολή τους συνοδεύεται από ύφεση της φλεγμονής. (35) Επιπλέον, τα ηωσινόφιλα μπορούν να διηθήσουν το μυοκάρδιο, όπως παρατηρείται σε διαγονιδιακά πειραματικά μοντέλα που υπερεκφράζουν IL-5, οδηγώντας σε επιθετική ηωσινοφιλική μυοκαρδίτιδα. (36) Τα ηωσινόφιλα δεν αποτελούν απαραίτητο στοιχείο για την έναρξη της μυοκαρδίτιδας, αλλά διαμεσολαβούν στην εξέλιξή της σε DCM μέσω της έκκρισης IL-4. (36)

Ιστορικά, η μυοκαρδίτιδα θεωρούνταν μια νόσος διαμεσολαβούμενη από τα T κύτταρα. Λαμβάνοντας, όμως, υπόψιν τον όγκο των δεδομένων που αποδεικνύουν τη συμμετοχή του συνόλου των φλεγμονωδών κυττάρων, σήμερα η παθογένεση της μυοκαρδίτιδας θα πρέπει να περιγράφεται ως μια κατάσταση γενικευμένης ανοσολογικής απορρύθμισης, με συμμετοχή τόσο της επίκτητης όσο και της έμφυτης ανοσίας. (37), (38) Μεταξύ των βασικών συντελεστών, τα δένδριτικά κύτταρα (ΔΚ) είναι μια ομάδα ετερογενών κυττάρων που είναι υπεύθυνα για την παρουσίαση αντιγόνων και μπορεί να προέρχονται από αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα ή από μονοκύτταρα. Στο περιφερικό αίμα ασθενών με μυοκαρδίτιδα έχουν παρατηρηθεί διαφοροποιήσεις σε υποπληθυσμούς των ΔΚ. Κατά την οξεία φάση, παρατηρούνται υψηλότερα επίπεδα ΔΚ με αυξημένη έκφραση των συν-διεγερτικών πρωτεϊνών σε σχέση με τα υγιή άτομα, αντανakλώντας μια κατάσταση αυξημένης απόκρισης που μπορεί να προετοιμάζει και την αποδοτικότερη απάντηση των T κυττάρων. (39) Αντίστροφα, σε μια μικτή κοορτή ασθενών με υποψία ή αποδεδειγμένη με βιοψία μυοκαρδίτιδα που κατέληξε σε DCM, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων των πλασματοκυττάρων και ΔΚ στο περιφερικό αίμα, με ταυτόχρονη συσσώρευσή τους στο μυοκάρδιο των ασθενών αυτών. (40) Αυτά τα αντικρουόμενα αποτελέσματα θα μπορούσαν να αποδοθούν σε διαφοροποιήσεις στα κριτήρια εισαγωγής και σε διαφορετικά πάνελ για το χαρακτηρισμό των ΔΚ, ωστόσο υποδηλώνουν τον πιθανό παθογενετικό ρόλο των ΔΚ στη μυοκαρδίτιδα, υπόθεση που υποστηρίζεται και από πολυάριθμα πειραματικά μοντέλα. Τα ΔΚ φαίνεται ότι διεγείρουν τα T λεμφοκύτταρα και εντείνουν τη φλεγμονή του μυοκαρδίου μέσω της γλυκοπρωτεΐνης τεναςκίνης-C, η οποία επάγει την έκφραση φλεγμονωδών κυτταροκινών και την ενεργοποίηση των Th17 μέσω του υποδοχέα Toll-like (TLR-4). (41) Ακόμα, μετά την επαγωγή της αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας, τα συμβατικά ΔΚ τύπου 2 φαίνεται ότι παρουσιάζουν ειδικά την α-μυοσίνη και διεγείρουν τη διαφοροποίηση των Th1 και Th17. (38)

**Πίνακας 2.** Κυτταροκίνες και χημειοκίνες που σχετίζονται με την παθογένεση της μυοκαρδίτιδας.  
(42)

| <b>Ρόλος των κυτταροκινών στη μυοκαρδίτιδα</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Προφλεγμονώδεις                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Αντιφλεγμονώδεις                         |
| <b>CCL5:</b> CTL παράγοντας χημειοταξίας<br><b>IFN-γ:</b> εκκρίνεται από τα διηθητικά T κύτταρα και αυξάνει τη φλεγμονή στον καρδιακό ιστό<br><b>IL-1β:</b> σημαντική για την έμφυτη ανοσία<br><b>IL-4:</b> σχετίζεται με τη διαφοροποίηση των Th2 κυττάρων<br><b>IL-5:</b> στην ηωσινοφιλική μυοκαρδίτιδα<br><b>IL-6:</b> απαραίτητη για την ανάπτυξη μυοκαρδίτιδας και τη διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων<br><b>IL-17:</b> εκκρίνεται από τα Th17 και μεσολαβεί στη στρατολόγηση των μυελοειδών κυττάρων, ίνωση και την εξέλιξη της DCM<br><b>IL-22:</b> εκκρίνεται από τα Th22 κύτταρα<br><b>IL-23:</b> απαραίτητη για την ανάπτυξη μυοκαρδίτιδας και τη διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων<br><b>MIP-1α:</b> μακροφάγα και CTL παράγοντας χημειοταξίας<br><b>TGF-β1:</b> ευοδώνει τη διαφοροποίηση των Th17<br><b>TNF-α:</b> ενεργοποίηση ενθροθλιακών κυττάρων για την προσέλκυση των T | <b>IL-10:</b> μειώνεται στη μυοκαρδίτιδα |

(Ανατύπωση από: Vicenzetto C, Giordani AS, Menghi C, Baritussio A, Scognamiglio F, Pontara E, et al. Cellular Immunology of Myocarditis: Lights and Shades—A Literature Review. Cells. 2024)

Η δυσλειτουργία των T ρυθμιστικών (Treg ) κυττάρων είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την έντονη ενεργοποίηση και αύξηση των Th17 τα οποία έχει αποδειχθεί ότι παίζουν παθογενετικό ρόλο στη μυοκαρδίτιδα/ DCM, συνεπώς ο λόγος των Th17/Treg στη μυοκαρδίτιδα είναι μεγαλύτερος του 1. (43) Αυτή η ανισομετρία φαίνεται να συνδέεται με το miR-155 που ανευρίσκεται αυξημένο σε περιπτώσεις μυοκαρδιακής φλεγμονής, το οποίο στα πειραματικά μοντέλα της αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας φαίνεται ότι διευκολύνει τη διαφοροποίηση των Th17, ενώ αναστέλλει τα Treg. (44) Αυτή ακριβώς η ανισορροπία έχει αποτελέσει στόχο μικρών μορίων, όπως η φενοφιβράτη και αντισωμάτων έναντι των κυτταροκινών που εκκρίνουν τα Th17, όπως η IL-17 και IL-23, με συνοδό μείωση της φλεγμονής σε μοντέλα. (45) Ο πιο αναγνωρισμένος ρόλος των Th17 είναι η συμβολή τους στην εξέλιξη σε DCM. (46) Συγκεκριμένα, οι IL-23 και IL-6 επάγουν τη διαφοροποίηση των Th17, τα οποία διηθούν στη συνέχεια το μυοκάρδιο. (47) Αντίθετα, η σίγαση τους αναστέλλει την έναρξη και την περαιτέρω εξέλιξη της αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας. (48) Η IL-6 είναι απαραίτητη κυτταροκίνη για την εμφάνιση και εξέλιξη της

μυοκαρδίτιδας, όπως έχει φανεί σε πειραματικά μοντέλα, όπου επί απουσίας της IL-6 καθίστανται ανθεκτικά στην ανάπτυξη μυοκαρδίτιδας. (49)

Το πιο πρόσφατο μοντέλο της αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας, υποστηρίζει ότι στην οξεία φλεγμονώδη φάση τα Th17 κύτταρα είναι ο κύριος πληθυσμός T κυττάρων που υπερεκφράζουν τον επαγόμενο από την υποξία παράγοντα 1α (Hypoxia Inducible Factor, Hif1α), ενώ τα Treg ανευρίσκονται στην υποξεία φάση και τα γδ T κύτταρα που απελευθερώνουν IL-17 είναι ο κύριος T πληθυσμός στη φάση της μυοκαρδιοπάθειας. (50) Η IL-17A, που εκκρίνεται από τα διηθητικά Th17 κύτταρα, προκαλεί την παραγωγή των κυτταροκινών που προσελκύουν τα μονοκύτταρα από τους καρδιακούς ινοβλάστες. (51) Επιπλέον, τα Th17 κύτταρα περαιτέρω προάγουν τη δική τους διαφοροποίηση μέσω μιας θετικής ανάδρασης, που πυροδοτείται από την IL-17-A και έχει ως αποτέλεσμα την ρύθμιση προς τα πάνω των IL-6, TNF-α, και IL-1 που με τη σειρά τους οδηγούν στην προσέλκυση των CD11b+ μονοκυττάρων και Gr1+ κοκκιοκυττάρων στην καρδιά. Επίσης, τα πειραματικά μοντέλα που φείδονταν IL-17A εμφάνισαν μειωμένη διάμεση μυοκαρδιακή ίνωση. (46)

Η παθογονικότητα των Th17 έχει επίσης αναδειχθεί στη μυοκαρδίτιδα σε ανθρώπους. Έχει βρεθεί μεγαλύτερη συγκέντρωση κυκλοφορούντων μορίων MicroRNA, όπως το hsa-Chr8:96 σε ανθρώπους με οξεία μυοκαρδίτιδα επιβεβαιωμένη με βιοψία, ένα ομόλογο του mmu-miR-721 που παράγεται από τα Th17 κύτταρα και ανευρίσκεται σε πειραματικά μοντέλα αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας, αλλά όχι σε οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. (52) Τα Th17 βρίσκονται αυξημένα στο περιφερικό αίμα ασθενών με υποψία μυοκαρδίτιδας/ DCM που έχουν εμμένοντα συμπτώματα καρδιακής ανεπάρκειας και σε δείγματα EMB με μεγάλη έκταση ίνωσης. Ο ρόλος τους στην εξέλιξη της νόσου αποδεικνύεται και από τη μέτρηση των εκκρινόμενων από τα Th17 κυτταροκινών: η IL17-A αυξάνεται μόνο αφού περάσουν 6 μήνες από την έναρξη της νόσου, ενώ η IL-6 και ο παράγοντας TGF-β1 (κυτταροκίνες που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση των Th17) είναι αυξημένοι από τη στιγμή της διάγνωσης. Η διαφοροποίηση των Th17 μπορεί να διεγείρεται και από την καρδιακή μυοσίνη στη μυοκαρδίτιδα στους ανθρώπους, αφού τα πεπτίδια της περιοχής της S2 (cardiac myosin S2 hinge region S2-16 and S2-28) λειτουργούν σαν ενδογενή συνεκτικά στοιχεία για τους Toll-like receptor 2, οδηγώντας σε μια υπερβολική αντίδραση για παραγωγή κυτταροκινών που επάγουν τη διαφοροποίηση των Th17 από τα CD14+ μονοκύτταρα. (43)

Αν και με λιγότερες ενδείξεις μέχρι τώρα, φαίνεται ότι και άλλοι πληθυσμοί T βοηθητικών κυττάρων παίζουν ρόλο στην παθογένεια της μυοκαρδίτιδας. Η χορήγηση αντισωμάτων έναντι στα CD4+ κύτταρα αναστέλλει την εξέλιξη της νόσου σε πειραματικά μοντέλα. (53) Σε διαγονιδιακά πειραματικά μοντέλα με υποδοχέα T κυττάρων ειδικό για τη βαριά άλυσσο της μυοσίνης α (residue 614–629) που αναπτύσσουν αυτόματα μυοκαρδίτιδα, τα διηθητικά CD4+ T κύτταρα εκκρίνουν IFN-γ και IL-17, υπονοώντας το φαινότυπο Th1/Th17. Ειδικότερα, η σηματοδότηση της IFN-γ είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη μυοκαρδίτιδας, ενώ και σε αυτό το μοντέλο η IL-17A συνδέεται με τη βαρύτητα της νόσου και την εξέλιξη σε DCM. (54) Αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώνονται και από την *in vitro* διέγερση των σπληνοκυττάρων πειραματικών μοντέλων αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας με ανασυνδυασμένο τμήμα της καρδιακής μυοσίνης (1074–1646), που περιέχουν λεμφοκύτταρα που εκκρίνουν περισσότερη IFN-γ, IL-6 και IL-17, παρά IL-4. (55) Το παραπάνω υπογραμμίζει τη σημασία των Th1 κυττάρων στη μυοκαρδίτιδα, αν και ο ακριβής τους ρόλος είναι ακόμα υπό διερεύνηση. Στα κλασικά μοντέλα αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας, τα ειδικά MYHC-α Th κύτταρα πιο συχνά διαφοροποιούνται προς κύτταρα που εκκρίνουν IFN-γ. (56) Η μεταφορά CD4+ T κυττάρων ειδικών για την αιμοσυγκολλητίνη της γρίπης (influenza hemagglutinin, HA) σε διαγονιδιακά πειραματικά μοντέλα που εκφράζουν την HA με τον υποκινητή MYHC-α, δημιουργεί έναν κυτταροτοξικό Th1 φαινότυπο, με έκκριση χημειοκινών όπως τη φλεγμονώδη πρωτεΐνη των μαρκοφάγων-1α (Macrophage Inflammatory Protein, MIP) και τη CCL5, που διεγείρουν τη μετανάστευση των CD8+ κυττάρων. (57) Από την άλλη, τα Th2 λεμφοκύτταρα για πρώτη φορά εμπλέκονται στην παθογένεση αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας σε πειραματικά μοντέλα ηωσινοφιλικής ή γιγαντοκυτταρικής μυοκαρδίτιδας, ενώ η θεραπεία με αντι-IL-4 μειώνει τη βαρύτητα της νόσου. (58) Σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες για τα Th1 κύτταρα, μια μελέτη σε πειραματικό μοντέλο αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας έδειξε ότι οι Th1 κυτταροκίνες αυξήθηκαν στην οξεία φάση και μειώθηκαν κατά τη φάση ανάρρωσης όταν οι Th2 κυτταροκίνες αυξήθηκαν μαζί με τα επίπεδα IL-10. (59) Δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί ο ρόλος των Th2, αλλά μια πρόσφατη μελέτη αναφέρει ότι στα προχωρημένα επίπεδα αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας, η πρωτεΐνη Bcl2-like 12 (Bcl2L) ευνοεί τη διαφοροποίηση των Th2 κυττάρων με την έκφραση IL-4 και αναστέλλει την απόπτωση μέσω αποκλεισμού της έκφρασης του p53, οδηγώντας σε μια διαμεσολαβούμενη από Th2 φλεγμονή του μυοκαρδίου. (60)

Άλλοι υπότυποι των CD4+ λεμφοκυττάρων, όπως τα Th22 κύτταρα, έχουν βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα στο περιφερικό αίμα ασθενών με DCM, υποδηλώνοντας την ευρεία εμπλοκή

υποπληθυσμών των Τ βοηθητικών κυττάρων στη παθογένεια της μυοκαρδίτιδας/ DCM. (61) Φαίνεται λοιπόν, ότι ο ρόλος των CD4<sup>+</sup> κυττάρων είναι διττός τόσο στην έναρξη όσο και στην ανάρρωση της μυοκαρδίτιδας, μέσω της σηματοδότησης TNF-α που ευοδώνει την ανάπτυξη της μυοκαρδίτιδας με την ενεργοποίηση των καρδιακών ενδοθηλιακών κυττάρων που στη συνέχεια προσελκύουν τα Τ κύτταρα, ενώ από την άλλη φαίνεται να πυροδοτεί το μονοπάτι του επαγόμενου κυτταρικού θανάτου στα αντιδρώντα καρδιακά Τ κύτταρα. (62)

Τα c-Met<sup>+</sup> Τ κύτταρα μνήμης εκφράζουν τον παράγοντα hepatocyte growth factor receptor c-mesenchymal epithelial transition factor (c-Met) και φαίνεται να δείχνουν προτίμηση στην καρδιά. Τα κύτταρα αυτά εντοπίζονται σε μεγάλους αριθμούς σε φλεγμονώδη διηθήματα στο μυοκάρδιο ασθενών με οξεία μυοκαρδίτιδα ή DCM ως απόκριση στο αυτοαντιγόνο της καρδιακής μυοσίνης. Ένα μοναδικό χαρακτηριστικό τους είναι ότι μπορούν να εκκρίνουν ένα μίγμα των κυτταροκινών που κανονικά παράγουν διαφορετικά Τ βοηθητικά κύτταρα, όπως IL-4/IL-13, IL-17 και IL-22 σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα. Τα c-Met<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> έχουν αναγνωριστεί σε περιπτώσεις φλεγμονώδους DCM και σε άλλες μορφές γενετικής μυοκαρδιοπάθειας, υπονοώντας ότι η εμπλοκή του ανοσοποιητικού συστήματος θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν ακόμα και σε περιπτώσεις που δεν επιτελεί τον κύριο παθογενετικό μηχανισμό. Τα c-Met<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> κύτταρα μνήμης είναι πιο ειδικά για τη DCM. Αυτό μπορεί να οφείλεται στον κρίσιμο ρόλο των CD8<sup>+</sup> Τ κυττάρων στην περιχαράκωση των ιών κατά την ανοσιακή απόκριση μετά από ιογενή λοίμωξη. (63) Επιπλέον, τα c-Met<sup>+</sup> Τ βλαστικά κύτταρα μνήμης, εντοπίζονται σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα ή DCM, αλλά όχι σε ασθενείς με γενετικές μυοκαρδιοπάθειες. (63) Τα κύτταρα αυτά παίζουν ρόλο στη διατήρηση των Τ διαμεσολαβούμενων αυτοάνοσων νοσημάτων, στα οποία παρέχουν μια εφεδρεία αυτό-αντιδρώντων Τ κυττάρων που διαιωνίζουν τη χρόνια φλεγμονή, άρα και επιμονή της αυτοανοσίας στη μυοκαρδίτιδα και στη DCM. (63) Η απουσία τους σε ασθενείς με γενετικές μυοκαρδιοπάθειες υποδηλώνει ότι σε αυτές τις παθήσεις η αυτοανοσία αναδύεται περιστασιακά ή διακοπτόμενα, πιθανά σε απόκριση σε ερεθίσματα, όπως την άσκηση ή κατά τη διάρκεια συστηματικών φλεγμονωδών απαντήσεων μετά από κατά τα άλλα μη σχετιζόμενων διαταραχών. (63) Πρόσφατα, έχει αναγνωριστεί η παρουσία εξαντλημένων CD8<sup>+</sup> λεμφοκυττάρων σε EMB και σε περιφερικό αίμα ασθενών με φλεγμονώδη DCM, με αυξημένα επίπεδα να συνδέονται με χειρότερη πρόγνωση σε μια μικτή κοορτή ασθενών με φλεγμονώδη και μη DCM. (64)

Το σύμπλεγμα των T κυττάρων στη μυοκαρδίτιδα μπορεί να αναπτύξει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά λόγω επέκτασης των κυττάρων με υποδοχέα T κυττάρων (T cell receptor, TCR) ειδικό για το μυοκάρδιο. Σε διάφορα μοντέλα, και σε in vitro μελέτες, έχει φανεί ότι τα T κύτταρα στοχεύουν συχνά την α ισομορφή της MYHC, που είναι και το προεξάρχον αντιγόνο που εντοπίζεται σε αυτό το πλαίσιο. (54), (56), (57), (65) Παρά το γεγονός ότι το α-MYHC αποτελεί μόνο ένα μικρό τμήμα του MYHC στην ανθρώπινη καρδιά, έχει φανεί ότι τα επιθηλιακά κύτταρα του μυελού του θύμου- που παίζουν κριτικό ρόλο στην κεντρική ανοχή των T κυττάρων- φεйдονται της έκφρασης α-MyHC, με αποτέλεσμα μειωμένο έλεγχο σε αυτοαντιγόνα έναντι α-MyHC, επιτρέποντας την παρουσία α-MyHC/ T κυττάρων ιδίως στο περιφερικό αίμα. (37) Επιπροσθέτως της μειωμένης ανοσολογικής ανοχής, η μίμηση δομικών ή ανοσολογικών στοιχείων κατά τις βακτηριακές ή ιογενείς λοιμώξεις μπορεί να συμβάλλουν στην εμφάνιση T κυττάρων που στοχεύουν το μυοκάρδιο. (66) Συγκεκριμένα, EMB ασθενών με DCM έχουν δείξει ότι τα T κύτταρα που διηθούν το μυοκάρδιο σε περιπτώσεις ιογενούς μυοκαρδίτιδας/ DCM εκφράζουν κατά προτίμηση τον TCR Vbeta. (67)

## **1.5 Ο γενετικός παράγοντας στην ανάπτυξη της μυοκαρδίτιδας**

Η ευπάθεια μόνο συγκεκριμένων ατόμων για την ανάπτυξη μυοκαρδίτιδας, η ετερογενής κλινική της εκδήλωση και η ποικίλη πορεία εξέλιξής της αποτελούν ενδείξεις για την ύπαρξη γενετικού υποστρώματος. Η επίδραση του γενετικού παράγοντα στην ανάπτυξη μυοκαρδίτιδας έχει διερευνηθεί μέσα από τρεις κύριες υποθέσεις: 1. Γενετική προδιάθεση για αυτοανοσία ή ανοσολογική ευπάθεια σε λοιμογόνους ή άλλους παράγοντες, 2. Τα επεισόδια μυοκαρδιακής φλεγμονής (μυοκαρδίτιδα) αποτελούν μέρος της φυσικής πορείας της μυοκαρδιοπάθειας (hot phases cardiomyopathy), που συνήθως ακολουθούνται από επιδείνωση της προηγούμενης κατάστασης και 3. Η ύπαρξη γενετικού υποστρώματος μυοκαρδιοπάθειας, διαταράσσει την αρχιτεκτονική του μυοκαρδίου και το καθιστά πιο ευάλωτο σε λοιμώξεις (second hit theory). Στη συνέχεια παρατίθενται δεδομένα που υποστηρίζουν τις 3 υποθέσεις, με κύρια έμφαση στις 2 τελευταίες περιπτώσεις που αφορούν στις γενετικές μυοκαρδιοπάθειες και αποτελούν το κύριο θέμα της παρούσας μελέτης.

### **1.5.1 Γενετική προδιάθεση για αυτοανοσία ή ανοσολογική ευπάθεια σε λοιμογόνους ή άλλους παράγοντες**

Το γεγονός ότι μερικοί ασθενείς αντιμετωπίζουν επιτυχώς τους καρδιοτρόπους ιούς, ενώ άλλοι παρουσιάζουν μυοκαρδίτιδα ή/και μυοκαρδιοπάθεια, οδήγησε αρχικά στον έλεγχο ύπαρξης

γονιδίων που εμπλέκονται στην ανοσολογική απάντηση σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα,. Έτσι, μελετήθηκαν γενετικοί πολυμορφισμοί στα γονίδια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (major histocompatibility complex, MHC) που κωδικοποιούν περιοχές δέσμευσης αντιγόνου και οδηγούν σε διαταραχές της ανοσολογικής απόκρισης. (68) Σε πειραματικά διαγονιδιακά μοντέλα με έκφραση του ανθρώπινου αντιγόνου των λευκοκυττάρων (human leukocyte antigen, HLA) -DQ8 ή HLA-DR4 παρατηρήθηκε εμφάνιση αυτόματης θανατηφόρας αυτοάνοσης μυοκαρδίτιδας. (69), (70) Στον άνθρωπο, αλληλόμορφα, όπως το -DR4, HLA-DR12 και HLA-DR15 έχουν συσχετιστεί με ανάπτυξη μυοκαρδίτιδας και υψηλότερο κίνδυνο εξέλιξης σε DCM. (71),(72) Ακόμα, σε πειραματικά μοντέλα με εξάλειψη του υποδοχέα Toll-like 3 (TLR3) παρατηρήθηκε ευπάθεια στον ιό Coxsackie ομάδας Β ορότυπου 3 (CVB3), συνοδευόμενη από οξεία μυοκαρδίτιδα. (73) Αντίθετα, η διαγονιδιακή έκφραση του TLR3 προσέδωσε προστασία στην προσβολή του μυοκαρδίου από το CVB3 και άλλους τύπους ιών ακόμα και επί απουσίας τύπου Ι σηματοδότησης μέσω ιντερφερόνης (interferon, IFN), υπό την προϋπόθεση η IFN-σηματοδότηση τύπου ΙΙ να παρέμενε άθικτη. (73) Εντούτοις, τα αποτελέσματα από μελέτες σε ανθρώπους, σε σχέση με τη συμμετοχή της έμφυτης ανοσίας μέσω STAT1 εξαρτώμενων, IFN και TLR-3 οδών στην ανάπτυξη μυοκαρδίτιδας, είναι αντικρουόμενα. Η μελέτη του Belkaya και συνεργατών, με ανθρώπινα μυοκαρδιακά κύτταρα που προήλθαν από τη δημιουργία πολυδύναμων αρχέγονων κυττάρων (myocardial cells derived from human induced pluripotent stem cells, hiPSCs-MC), απέτυχε να δείξει ευπάθεια σε λοίμωξη από CVB3 των μυοκαρδιακών κυττάρων, στα οποία υπήρχε έλλειψη έκφρασης TLR3 και STAT1, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. (74) Στην ίδια μελέτη, πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση όλων των εξονίων του γονιδιώματος (whole exome sequencing, WES) σε 42 παιδιά με μυοκαρδίτιδα και φάνηκε ότι η ύπαρξη παραλλαγών σε γονίδια που έχουν συσχετιστεί με τις κλασικές γενετικές μυοκαρδιοπάθειες, προδιαθέτει στην ανάπτυξη μυοκαρδίτιδας, κυρίως μετά από κοινές ιώσεις. (74)

### **1.5.2 Τα επεισόδια μυοκαρδιακής φλεγμονής αποτελούν μέρος της φυσικής πορείας της μυοκαρδιοπάθειας (hot phases cardiomyopathy)**

Η παρατήρηση ότι η οξεία μυοκαρδίτιδα μπορεί να είναι η πρώτη εκδήλωση σε ασθενείς με ACM (75) οδήγησε στην υπόθεση ότι παθολογικές παραλλαγές γονιδίων που αφορούν στην καρδιακή δομή μπορεί να αυξήσουν την ευπάθεια σε φλεγμονή που προκαλείται από ιούς ή άλλους παράγοντες. (1) Πλέον έχουν περιγραφεί επαρκώς στη φυσική πορεία των

μυοκαρδιοπαθειών, ιδιαίτερα της αρρυθμιογόνου μυοκαρδιοπάθειας, οι «θερμές φάσεις» (hot phases), που χαρακτηρίζονται κλινικά από προκάρδιο άλγος, αύξηση των καρδιακών ενζύμων και αρρυθμίες, ενώ παθολογοανατομικά και απεικονιστικά από ενδείξεις φλεγμονής και τελικά ίνωσης. Αυτό καθιστά το διαχωρισμό τους από επεισόδια κλασικής οξείας μυοκαρδίτιδας δύσκολη. (76)

#### **Φλεγμονή και γονίδια που σχετίζονται με την αρρυθμιογόνο μυοκαρδιοπάθεια**

Η ACM κυρίως αφορά μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν 5 δεσμοσωμικές πρωτεΐνες: δεσμοπλακίνη (Desmoplakin, DSP), πλακοφιλίνη 2 (Plakophilin-2, PKP2) πλακοσφαιρίνη (junctional plakoglobin, JUP), δεσμοκολλίνη-2 (desmocollin-2, DSC2) και δεσμογλεΐνη 2 (Desmoglein-2, DSG2). Το δεσμόςωμα είναι ένα πολυπρωτεϊνικό σύμπλεγμα που συμβάλλει στις διακυτταρικές συνδέσεις και εξασφαλίζει τη μυοκαρδιακή συνοχή και την ηλεκτρική διασύνδεση. Μεταλλάξεις στα δεσμοσωμικά γονίδια διακόπτουν την ακεραιότητα των παρεμβλλόμενων δίσκων, με αποτέλεσμα την αποσύνδεση των μυοκαρδιακών κυττάρων, ακολουθούμενη από απόπτωση και τελικά ινολιπώδη αντικατάστασή τους. (77) Στους ασθενείς που παρουσιάζουν «θερμές φάσεις» η πιο συχνά εντοπιζόμενη παθογόνος παραλλαγή εδράζεται στο γονίδιο της DSP. Η DSP είναι η κύρια πρωτεΐνη των δεσμοσωμάτων στην καρδιά και στο δέρμα και συγκροτεί τα δεσμοσώματα σε ενδιάμεσα νημάτια. Όπως έχει περιγραφεί από τον Smith και τους συνεργάτες, μεταλλάξεις στην DSP σχετίζονται με προεξάρχουσα εμπλοκή της αριστερής κοιλίας με συστολική δυσλειτουργία, υποεπικαρδιακή ίνωση και φλεγμονώδεις «θερμές φάσεις» που συνήθως προηγούνται της επιδείνωσης της συστολικής λειτουργίας. (78) Αντιστρόφως, η ανεύρεση DSP παραλλαγών σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα έχει συσχετιστεί με χειρότερη έκβαση, καθώς είχαν υψηλότερο κίνδυνο για κοιλιακές αρρυθμίες και υποτροπή της μυοκαρδίτιδας. (79) Αν και λιγότερο συχνές, γενετικές παραλλαγές στα γονίδια της PKP2 και της DSG2 ανευρέθησαν σε αναδρομικές μελέτες σε ποσοστά 21% και 13% αντίστοιχα σε ασθενείς με «θερμές φάσεις». (80) Εντούτοις, δεν έχει διασαφηνιστεί ο ακριβής μηχανισμός που συνδέει τις παραλλαγές των γονιδίων της ACM με τις «θερμές φάσεις».

Ιστοπαθολογικές μελέτες έχουν δείξει σημαντικού βαθμού φλεγμονώδη διηθήματα και απόπτωση μυοκαρδιακών κυττάρων στις καρδιές ασθενών με ARVC. (81) Οι «θερμές φάσεις» χαρακτηρίζονται από ενεργοποίηση της έμφυτης και της επίκτητης ανοσίας, με τα T λεμφοκύτταρα, τα μακροφάγα και ουδετερόφιλα να είναι τα κυριότερα κύτταρα που ανευρίσκονται. Στην πρόιμη φάση της νόσου, τα κατεστραμμένα μυοκαρδιακά κύτταρα

απομακρύνονται από τα ουδετερόφιλα που εκκρίνουν μυελοϋπεροξειδάση (myeloperoxidase secreting neutrophils, MPO +), τα οποία σταδιακά αντικαθίστανται από M2 μακροφάγα. Η απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών, όπως IL-1, IL-6, TNFα και IFNγ προκαλεί βλάβη στο μυοκάρδιο και προσελκύει επιπλέον κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, δημιουργώντας ένα φαύλο κύκλο φλεγμονής και ιστικής βλάβης. (82) Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος φαίνεται επίσης να συμμετέχει στις «θερμές φάσεις», που συμπεραίνεται από τα υψηλά επίπεδα C3, C5 και C9 στον ορό ασθενών με ACM και βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας σε πειραματικά μοντέλα που έχουν παθολογική παραλλαγή στην DES αφού ανασταλεί ο υποδοχέας C5a. (83), (84) Επίσης, έχει παρατηρηθεί η παραγωγή IL-1β σε πειραματικά μοντέλα που έχουν παθολογική παραλλαγή της DSG2 και σε ανθρώπινα iPSC-CMs που φέρουν μετάλλαξη στη PKP2. (85) Ακόμα, μέσω της υπερέκφρασης του NF-KB, τα μεταλλαγμένα hiPSC-CMs μπορούν να εκκρίνουν φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, ακόμα και επί απουσίας κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Αυτός ο καταρράκτης φλεγμονής μέσω και της δημιουργίας ινώδους ιστού, μπορεί να αποδιοργανώσει την αρχιτεκτονική του μυοκαρδίου και να αυξήσει τον κίνδυνο αρρυθμιών. Σε μια πρόσφατη μελέτη, τα hiPSC-CMs με μετάλλαξη στη DSG2 παρουσίασαν υπερέκφραση του NF-KB που συσχετίστηκε με ηλεκτροφυσιολογικές διαταραχές, ενώ η καταστολή του DSG2 μέσω siRNA απέφερε μερική ομαλοποίηση αυτών των διαταραχών. (86)

### **Φλεγμονή και γονίδια που σχετίζονται με τη διατακτική μυοκαρδιοπάθεια**

Η τιτίνη (titin, TTN) είναι μια γιγαντιαία ελαστική πρωτεΐνη που καλύπτει το ήμισυ του σαρκομερίου, από το Z-δίσκο έως τη γραμμή M. Παίζει σημαντικό ρόλο στην παθητική ακαμψία, τη σταθερότητα του σαρκομερίου και στην εξαρτώμενη από το μήκος ενεργοποίηση-απαραίτητη για το μηχανισμό της καρδιάς Frank-Starling. (87) Σε πειραματικό μοντέλο με μυοκαρδίτιδα προκαλούμενη από CVB3, παρατηρήθηκε διαταραχή στη φωσφορυλίωση της TTN, με συνοδό δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας, αυξημένη καρδιακή φλεγμονή με αυξημένα επίπεδα IL-6 και ίνωση. Ο αποκλεισμός του υποδοχέα της IL-6 οδήγησε σε μείωση του ιικού φορτίου, αποκατάσταση της εξωκυττάριας ουσίας, βελτίωση της λειτουργίας της τιτίνης και τελικά ανάρρωση της καρδιακής λειτουργίας. (88) Σε πειραματικά μοντέλα που εμφάνιζαν έλλειψη δυστροφίνης ανιχνεύθηκε μυοκαρδιακή διήθηση από φλεγμονώδη κύτταρα, κυρίως μακροφάγα και T λεμφοκύτταρα και στις δύο κοιλίες. (89), (90) Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η στρατολόγηση των κυττάρων φλεγμονής μπορεί να αποτελεί τη βάση της καρδιακής

δυσλειτουργίας σε ασθενείς με μυϊκή δυστροφία Duchenne (Duchenne muscular dystrophy, DMD). Ακόμα, η ανάλυση δείγματος ορού από ασθενείς με μεταλλάξεις στο γονίδιο της λαμίνης A/C (lamin A/C, LMNA) ανέδειξε αυξημένα επίπεδα κυτταροκινών, όπως IL-6, G-CSF, IL-1Ra και IL-8, ιδίως στους ασθενείς με σοβαρά καρδιακά συμπτώματα. (91) Η βαρύτητα των συμπτωμάτων, όπως αρρυθμίες και συστολική δυσλειτουργία, σχετιζόταν με το βαθμό φλεγμονής. (91) Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης του στρες Hsp70 ανιχνεύθηκαν στον ορό των ασθενών. (91) Διαγονιδιακό πειραματικό μοντέλο με μετάλλαξη στο γονίδιο της LMNA παρουσίασε συσσώρευση της καρδιο-ειδικής προλαμίνης-A (csPLA-Tg)- που είναι πρόδρομος της λαμίνης A- με αποτέλεσμα φαινότυπο φλεγμονώδους μυοκαρδιοπάθειας. (92) Φαίνεται ότι η συσσώρευση προλαμίνης A πυροδοτεί την υπερέκφραση προφλεγμονωδών γονιδίων και προκαλεί ρήξη του κυτταρικού πυρήνα με επακόλουθη απελευθέρωση του HMGB1 στο κυτταρόπλασμα, μιας προφλεγμονώδους πρωτεΐνης του πυρήνα. (93) Αντίστροφα, η αναστολή του μονοπατιού mTOR από το temsirolimus ή τη rapamycin φαίνεται να προλαμβάνει την εμφάνιση του φαινοτύπου της DCM. (94), (95) Η συσχέτιση μυοκαρδιακής φλεγμονής και καρδιακής δυσλειτουργίας προκαλούμενη από τη σπάνια παραλλαγή MYBPC3 έχει διερευνηθεί σε πειραματικό μοντέλο, όπου φάνηκε η διείσδυση προφλεγμονωδών μονοκυττάρων και μακροφάγων M1, μαζί με την ανοδική ρύθμιση των φλεγμονωδών μονοπατιών. (96)

### **1.5.3 Η ύπαρξη γενετικού υποστρώματος μυοκαρδιοπάθειας, διαταράσσει την αρχιτεκτονική του μυοκαρδίου και το καθιστά πιο ευάλωτο σε λοιμώξεις (second hit theory)**

Σύμφωνα με το μοντέλο του «δεύτερου χτυπήματος», γενετικά ελλείμματα προδιαθέτουν το μυοκάρδιο σε φλεγμονώδεις προσβολές, όπως ιογενείς λοιμώξεις οι οποίες με τη σειρά τους πυροδοτούν μυοκαρδιακή βλάβη και ινολιπώδη αντικατάσταση. Συγκεκριμένα, οι δεσμοσωμικές μεταλλάξεις φαίνεται ότι προκαλούν αναστολή του καταρράκτη Wnt/B-κατενίνης – η αναστολή του συνδέεται με τη δημιουργία λιπώδους και ινώδους ιστού- (97) και ενεργοποίηση του μονοπατιού Hippo/YAP, διεγείροντας την έκφραση των προ-αποπτωτικών γονιδίων και εξασθενώντας τις ενδοκυττάρειες συνδέσεις. (98) Έτσι, εξωγενείς παράγοντες μπορούν να επάγουν μυοκαρδιακή βλάβη και περαιτέρω ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος. Με αυτό συνάδει και το γεγονός ότι σε δείγματα EMB από το μυοκάρδιο ασθενών με ACM ανευρίσκεται πιο συχνά γονιδίωμα καρδιοτρόπων ιών. (99)

Η δυστροφίνη είναι μια πρωτεΐνη που σταθεροποιεί το σαρκείλημα, συνδέοντας την ακτίνη με την εξωκυττάρια ουσία, μέσω ενός συμπλόκου γλυκοπρωτεϊνών. Αυτή η σύνδεση

προστατεύει τα μυοκύτταρα από βλάβες επαγόμενες κατά τη συστολή. Οι εντεροϊοί κλασικά απελευθερώνονται από το κύτταρο με διάσπαση των κυτταρικών μεμβρανών ή κυτταρική λύση. Η έλλειψη δυστροφίνης συνεπάγεται ευπάθεια του σαρκελήμματος σε ρήξη και συνεπώς μεγαλύτερη ευκολία στην έξοδο των ιών. Αυτό επιτρέπει ταχύτερη μετάδοση του ιού σε παρακείμενα μυοκαρδιακά κύτταρα, αυξημένο ιϊκό φορτίο και πιο σοβαρή μυοκαρδιακή προσβολή. (2)

Το BAG3 ανήκει στην οικογένεια των συνοδών πρωτεϊνών (co-chaperones) που εδράζονται στην περιοχή του Bcl-2 associated athanogene. Η έκφραση του BAG3 διεγείρεται από στρεσογόνα ερεθίσματα και φαίνεται να διευκολύνει την αναπαραγωγή κάποιων ερπητοϊών, υποδηλώνοντας ότι συμμετέχει στην ανοσολογική απόκριση σε λοιμώξεις. (100), (101) Μεταλλάξεις στο BAG3 έχουν συσχετισθεί με μορφές DCM. Σε πειραματικά μοντέλα, η έλλειψη BAG3 σχετίζεται με μια εξαρτώμενη από το παθογόνο αντίδραση. Συγκεκριμένα, έχει φανεί ότι παρουσία λιποπολυσακχαριδίων - που αποτελούν το κύριο συστατικό της μεμβράνης των Gram-βακτηρίων -ο παράγοντας NF-kB μπορεί να επάγει την έκφραση του BAG3. (102)

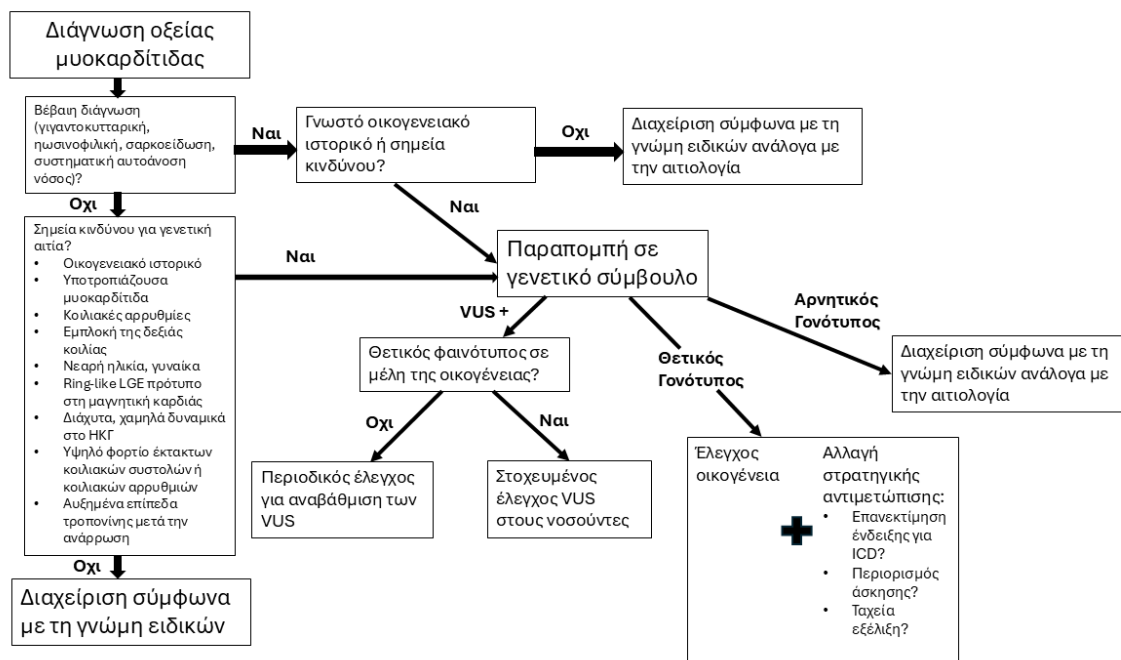
**Από τα μέχρι τώρα δεδομένα, δεν είναι ξεκάθαρο αν η φλεγμονή αντιπροσωπεύει ένα ερέθισμα για την έκφραση του γενετικού υποστρώματος της μυοκαρδιοπάθειας ή/και αν αποτελεί το επιφαινόμενο ενός ευπαθούς μυοκαρδίου.**

## **1.6 Υπάρχοντα κλινικά δεδομένα σχετικά με την ύπαρξη γονιδίων μυοκαρδιοπάθειας σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα**

### **1.6.1 Προτεινόμενος αλγόριθμος για τη διενέργεια γενετικού ελέγχου σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα**

Η συσχέτιση της μυοκαρδίτιδας με γονίδια μυοκαρδιοπάθειας έχει πλέον τεκμηριωθεί και αναφέρεται σε περίπου 15% των περιπτώσεων μυοκαρδίτιδας. Με βάση τα δεδομένα από τις μελέτες που θα αναφερθούν και στη συνέχεια, στην πρόσφατη συμφωνία ειδικών του Αμερικάνικου Κολλεγίου Καρδιολογίας του 2024 για τη Μυοκαρδίτιδα συστήνεται ο γενετικός έλεγχος- επί περιορισμένων πόρων- πρωτίστως σε ασθενείς με υποτροπιάζουσες μυοκαρδίτιδες ή ισχυρό οικογενειακό ιστορικό μυοκαρδιοπάθειας. (3) Ένα αλγόριθμος που έχει προταθεί από τον Scheel και τους συνεργάτες φαίνεται και στην **Εικόνα 2**. Στη συνέχεια παρατίθενται δεδομένα από τις υπάρχουσες κλινικές μελέτες, οι οποίες συνοψίζονται στον **Πίνακα 3**.

**Εικόνα 2.** Αλγόριθμος για τη διενέργεια γενετικού ελέγχου σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα στην κλινική πράξη.



(Ανατύπωση από: Scheel PJ, Cartella I, Murray B, Gilotra NA, Ammirati E. Role of genetics in inflammatory cardiomyopathy. Int J Cardiol. 2024)

### **1.6.2 Κλινική εικόνα μυοκαρδίτιδας ανάλογα με το γενετικό υπόστρωμα**

Στη μελέτη του Lota και των συνεργατών, στην κοορτή του Λονδίνου βρέθηκε ότι σε 3.1% (n=230) υπήρχε παραλλαγή που προκαλεί πρόωρο τερματισμό (truncating, tv) σε γονίδιο-σχετιζόμενο με την ACM, με την πλειοψηφία να είναι στο DSP-tv (3 ασθενείς). Ο φαινότυπος ήταν διατηρημένο κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας με κοιλιακές αρρυθμίες. (103) Στην κοορτή του Μασσάτσετς (n=106), ανιχνεύθηκαν παραλλαγές σε γονίδια-σχετιζόμενα με DCM, σε 7% των ασθενών, ιδίως TTN-tv (7 ασθενείς). Αυτοί οι ασθενείς είχαν κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας <50%. (103) Στη μελέτη του Ammirati και συνεργατών, η ομάδα των ασθενών με μυοκαρδίτιδα που είχαν θετικό γονίδιο δεσμοσώματος, παρουσίασαν πιο συχνά υποτροπή και κοιλιακές αρρυθμίες σε σχέση με την ομάδα με μυοκαρδίτιδα που δεν είχε παθογόνο παραλλαγή σε γονίδιο της ACM και την ομάδα με μυοκαρδίτιδα που δεν υπεβλήθησαν σε γενετικό έλεγχο. Επιπλέον, στη μαγνητική καρδιάς, οι γενετικά θετικοί ασθενείς είχαν μεγαλύτερη έκταση ίνωσης. (79) Στη μελέτη του Artico και συνεργατών, μεταξύ 27 ασθενών που είχαν ως πρώτη εκδήλωση καρδιακή ανεπάρκεια και συστολική δυσλειτουργία, η επίπτωση θετικού γενετικού ελέγχου ήταν

παρόμοια με αυτή της συνολικής κοορτής (n=9, 34%; 90% ήταν TTNtv). Από το σύνολο των 6 ασθενών που παρουσιάστηκαν με αρρυθμίες οι 2 (30%) ήταν φορείς παθολογικών παραλλαγών σε γονίδια που σχετίζονται με την ACM [όπως DSP και φιλαμίνη C (filamin C, FLNC)]. (104) Στη μελέτη του Ader και συνεργατών, σε ασθενείς με κοιλιακές αρρυθμίες ή/και διαταραχές της δεξιάς κοιλίας βρέθηκαν σε (56%) παθογόνες παραλλαγές σε γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθειες, ιδίως ACM. (105)

Επιπλέον, ο επιπολασμός θετικού γενετικού ελέγχου φάνηκε να είναι υψηλότερος σε ασθενείς που εμφάνισαν επιπλεγμένη μυοκαρδίτιδα. Στη μελέτη του Tiron, 33% των ασθενών με επιπλεγμένη μυοκαρδίτιδα [σοβαρή έκπτωση συστολικής λειτουργίας <30% (left ventricular ejection fraction, LVEF) καρδιογενή καταπληξία ή εμμένουσες κοιλιακές αρρυθμίες] είχαν παθογόνα ή πιθανά παθογόνα παραλλαγή (pathogenic/ likely pathogenic, P/LP). (106) Στη μελέτη του Seidel, το 35% των ασθενών με μυοκαρδίτιδα και DCM είχαν θετικό γονότυπο, έναντι 9% θετικό γονότυπο στην ομάδα με μυοκαρδίτιδα χωρίς φαινότυπο DCM. Ο φαινότυπος DCM χαρακτηριζόταν από πρόωμης έναρξης καρδιακή ανεπάρκεια και πτωχότερη επιβίωση. (107) Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και από άλλη μελέτη σε παιδιατρικό πληθυσμό, όπου φάνηκε ότι σε παιδιά με EMB-επιβεβαιωμένη μυοκαρδίτιδα και DCM (με μέσο LVEF=28%) σε 67% ανευρέθη P/LP γενετική παραλλαγή. (108)

### **1.6.3 Εκβάσεις ασθενών με μυοκαρδίτιδα με θετικό γονότυπο έναντι αυτών με αρνητικό γονότυπο**

Στη μελέτη του Lota η ολική θνητότητα ήταν 5.4%, με τα 2/3 να αποτελούν καρδιαγγειακό θάνατο λόγω επιδείνωσης της καρδιακής ανεπάρκειας (92%) ή αιφνίδιου καρδιακού θανάτου (8%). Ο 5ετής κίνδυνος θανάτου ήταν 11.1% στους γενετικά θετικούς έναντι 3.3% στους γενετικά αρνητικούς ασθενείς με μυοκαρδίτιδα (P adjusted=0.08). (103) Στη μελέτη του Ammirati το πρωτογενές καταληκτικό σημείο (θάνατος, εμμένουσα κοιλιακή αρρυθμία, υποτροπή της μυοκαρδίτιδας) παρατηρήθηκε συχνότερα στους ασθενείς με μυοκαρδίτιδα που είχαν γονίδιο ACM σε σχέση με αυτούς που δεν είχαν ή δεν ελέγχθηκαν γενετικά (62.3% έναντι 17.5% έναντι 5.3% στην 5ετία, αντίστοιχα; P < 0.0001), με το αποτέλεσμα να καθορίζεται κυρίως από την υποτροπή μυοκαρδίτιδας και τις κοιλιακές αρρυθμίες. (79) Στη μελέτη του Artico σε επανεκτίμηση μετά από 6 έτη περίπου, 16 (44%) από τους 36 ασθενείς ομαλοποίησαν το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας. Οι φορείς παθολογικών γονιδίων είχαν χαμηλότερη συχνότητα

αποκατάστασης του κλάσματος εξώθησης σε σχέση με τους γενετικά αρνητικούς ασθενείς (18% έναντι 56%, αντίστοιχα;  $p=0.035$ ). Όλοι οι φορείς που ανέκτησαν φυσιολογική συστολική λειτουργία κατά την επανεκτίμηση, είχαν TTNtv. Στη μελέτη του Kontorovich δε φάνηκε διαφορά στις εκβάσεις μεταξύ των γενετικά θετικών και γενετικά αρνητικών ασθενών με μυοκαρδίτιδα. Τέλος, στη μελέτη του Brown et al., τα άτομα σε νηπιακή ή εφηβική ηλικία που εμφάνισαν οξεία καρδιακή ανεπάρκεια που απεδόθη σε μυοκαρδίτιδα και είχαν παθογόνα ή πιθανά παθογόνα παραλλαγή στο γενετικό έλεγχο, είχαν δυσμενή πρόγνωση και δεν κατέστη δυνατή η ανάρρωση (2 απεβίωσαν και 5 υπεβλήθησαν σε μεταμόσχευση καρδιάς ή δρομολογήθηκαν προς μεταμόσχευση).

#### **1.6.4 Στοιχεία από το οικογενειακό ιστορικό ως σημείο κινδύνου για τη διενέργεια γενετικού ελέγχου**

Φαίνεται ότι η οξεία μυοκαρδίτιδα παρουσιάζεται συχνά σε οικογένειες με ιστορικό μυοκαρδιοπαθειών ή αιφνίδιου καρδιακού θανάτου. Αυτό καθιστά αναντικατάστατη τη λήψη πλήρους οικογενειακού ιστορικού προκειμένου να εντοπίζονται τα άτομα που φέρουν μεγαλύτερο κίνδυνο για υποκείμενη γενετική μυοκαρδιοπάθεια. Στην πρόσφατη μελέτη του Boulet και των συνεργατών, φάνηκε ότι οι ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα είχαν επταπλάσια πιθανότητα να έχουν αδέρφια με DCM και τριπλάσια να έχουν αδέρφια με καρδιακή ανεπάρκεια σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. (109) Ακόμα, στους ασθενείς με μυοκαρδίτιδα και θετικό οικογενειακό ιστορικό, η έκβαση ήταν δυσμενέστερη σε σχέση με αυτούς που δεν είχαν οικογενειακό ιστορικό. (109) Στη μελέτη του Piriou, η μυοκαρδίτιδα σε ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό μυοκαρδιοπάθειας ή αιφνίδιου θανάτου ήταν η αιτία να ανιχνευθούν άγνωστες ή υποδιαγνωσμένες περιπτώσεις ACM με προεξάρχουσα εμπλοκή της αριστερής κοιλίας. (110) Στη μελέτη του Marinas και συνεργατών 13 στους 20 ασθενείς με θετικό γονότυπο, ανέφεραν θετικό οικογενειακό ιστορικό για μυοκαρδιοπάθεια/ αιφνίδιο καρδιακό θάνατο, ενώ μόνο 7 ασθενείς με αρνητικό γονότυπο ανέφεραν θετικό οικογενειακό ιστορικό. (111) Αντίστοιχα, στη μελέτη του Tiron όσοι ασθενείς είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό, έβγαλαν θετικό γονότυπο με P/LP παραλλαγή, (106) ενώ στη μελέτη του Piriou, 6 οικογένειες με τουλάχιστον ένα περιστατικό οξείας μυοκαρδίτιδας και μυοκαρδιοπάθειας/ αιφνίδιου καρδιακού θανάτου, είχαν όλες θετικό γονιδιακό έλεγχο με την ανεύρεση τελικά 28 φορέων DSP και 5 DSG2 εκ των μελών της οικογένειας που ελέγχθησαν στα πλαίσια του στοχευμένου γονιδιακού ελέγχου. Μάλιστα, σε 38% των φορέων ανευρέθη ίνωση στη μαγνητική καρδιάς, χωρίς άλλες δομικές διαταραχές. (110)

### **1.6.5 Η κλινική σημασία του γενετικού ελέγχου σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα**

Ο γενετικός έλεγχος μπορεί να παίζει αναντικατάστατο ρόλο στη λήψη κλινικών θεραπευτικών αποφάσεων, στην πρόληψη του αιφνίδιου καρδιακού θανάτου και στον ενδελεχή οικογενειακό έλεγχο, ώστε να εντοπίζονται εγκαίρως ασυμπτωματικοί φορείς. Ένα βήμα παραπέρα, στην εποχή της Ιατρικής Ακριβείας μπορεί να συμβάλει και στον προεμφυτευτικό έλεγχο, βάζοντας ένα εμπόδιο στη μετάδοση της παθογόνου παραλλαγής στην επόμενη γενιά.

**Πίνακας 3.** Κυριότερες μελέτες συσχέτισης οξείας μυοκαρδίτιδας και γονιδίων σχετιζόμενων με γενετικές μυοκαρδιοπάθειες (με χρονολογική σειρά).

| Μελέτη (έτος)                   | Πληθυσμός/σκοπός                                                                                                                                           | Διάγνωση μυοκαρδίτιδας          | Οικογενειακό ιστορικό                               | Γενετικό πάνελ                                                                                                                                            | Κύρια ευρήματα                                                                                                           |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Belkaya (2017)</b> (74)      | 42 παιδιατρικοί ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα/συχνότητα γονιδίων αυτοανοσίας ή μυοκαρδιοπάθειας                                                           | CMR ή EMB                       | Δεν υπήρχαν συγγενείς α' βαθμού με μυοκαρδιοπάθειες | 49 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια                                                                                                                 | 7 (17%) φορείς P/LP γονιδίου-σχετιζόμενου με μυοκαρδιοπάθεια                                                             |
| <b>Brown (2019)</b> (112)       | 8 παιδιατρικοί ασθενείς με πρωτοεμφανιζόμενη ΚΑ από μυοκαρδίτιδα/γενετικός έλεγχος για μυοκαρδιοπάθεια                                                     | Κλινική υποψία, CMR ή EMB       | Χωρίς οικογενειακό ιστορικό μυοκαρδιοπάθειας        | 51-81 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια                                                                                                              | 5 (62%) είχαν θετικό P/LP γονίδιο, σε 3 περιπτώσεις ιογενής λοίμωξης (1 επιβεβαιωμένη με EMB)                            |
| <b>Ader (2020)</b> (105)        | 16 ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα και εμμένουσες κοιλιακές αρρυθμίες ή/και δυσλειτουργία RV/γενετικός έλεγχος για μυοκαρδιοπάθεια                          | Κλινική υποψία                  | SCD 2 (11%), μυοκαρδίτιδα 2 (11%), AF 2 (11%)       | Ασθενείς με διαταραχές RV: πρώτο πάνελ 12 ARVC-σχετιζόμενα γονίδια (n=10). Στους υπόλοιπους (n=6): πάνελ 51 σχετιζόμενων γονιδίων (+μείζονα ARVC γονίδια) | 9 (56%) φορείς P/LP γενετικής παραλλαγής                                                                                 |
| <b>Artico (2020)</b> (104)      | 36 ασθενείς με επιπλεγμένη λεμφοκυτταρική μυοκαρδίτιδα/γενετικός έλεγχος για μυοκαρδιοπάθεια                                                               | EMB                             | DCM 3 από τους 10 (27%) με θετικό γονότυπο          | Πάνελ 84 γονιδίων-σχετιζόμενων με μυοκαρδιοπάθεια                                                                                                         | 11 (31%) ήταν φορείς P/LP γενετικής παραλλαγής                                                                           |
| <b>Piriou (2020)</b> (110)      | 6 οικογένειες με τουλάχιστον ένα περιστατικό μυοκαρδίτιδας και μυοκαρδιοπάθειας ή SCD/επιπολασμός P/LP                                                     | CMR ή EMB στους ασθενείς με SCD | DCM 4 (66%), ACM 1 (17%), SCD 1 (17%)               | Πάνελ 31 γονιδίων                                                                                                                                         | Και στις 6 οικογένειες ανιχνεύθηκαν δεσμοσωμικές παραλλαγές με επικρατή αριστερό φαινότυπο (DSP και DSG2)                |
| <b>Kontorovich (2021)</b> (113) | 24 παιδιατρικοί ασθενείς που απεβίωσαν από μυοκαρδίτιδα έναντι 96 ομάδα ελέγχου/γενετικός έλεγχος για μυοκαρδιοπάθεια                                      | EMB +/- PCR για ιούς            | N/A                                                 | Πάνελ 57 γονιδίων-σχετιζόμενων με μυοκαρδιοπάθεια                                                                                                         | 4 (17%) P/LP έναντι 2% στην ομάδα ελέγχου, 75% στην ομάδα της μυοκαρδίτιδας είχαν και θετικό PCR για ιούς                |
| <b>Kontorovich (2021)</b> (85)  | 117 ασθενείς με μυοκαρδίτιδα έναντι 468 ομάδα ελέγχου/γενετικός έλεγχος για μυοκαρδιοπάθεια και κλινικά χαρακτηριστικά                                     | Κλινική υποψία ή EMB            | Δεν καταγράφηκε συστηματικά, DCM 2 (2%)             | 93 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια                                                                                                                 | 19 (16%) είχαν P/LP έναντι 34 (7%) στην ομάδα ελέγχου, ο φαινότυπος ήταν παρόμοιος ανεξάρτητα από την παρουσία γονιδίου. |
| <b>Seidel (2021)</b> (107)      | 42 παιδιατρικοί ασθενείς, ομάδα 1: 20 με μυοκαρδίτιδα +φαινότυπο DCM, ομάδα 2: 22 ασθενείς με μυοκαρδίτιδα χωρίς DCM/ κλινικός και γενετικός χαρακτηρισμός | EMB                             | N/A                                                 | 89 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια                                                                                                                 | 9 (22%) P/LP από τα οποία 78% στην ομάδα 1. Η ομάδα 1 παρουσίαζε πρόωμη έναρξη συμπτωμάτων ΚΑ και χειρότερη έκβαση.      |

|                                                     |                                                                                                                                                                                                |                                                             |                                                                                         |                                                                                                            |                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Anastasakis conference abstract (2022) (114)</b> | 55 ασθενείς με μυοκαρδίτιδα/ επιπολασμός P/LP σε ασθενείς με θόρυβο στην οικογένεια                                                                                                            | Κλινική υποψία $\geq$ 2 διαγνωστικά κριτήρια, 29% EMB ή CMR | SCD 28 (51%), μυοκαρδίτιδα/μυοκαρδιοπάθεια 31 (56%), HKΓ αλλοιώσεις/ αρρυθμίες 23 (42%) | 90 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια                                                                  | 43 (78%) φορείς P/LP                                                                                                                                        |
| <b>Ammirati (2022) (79)</b>                         | Ασθενείς με μυοκαρδίτιδα και - 36 με θετικό P/LP δεσμοσωμικό γονίδιο (DGV) - 25 με αρνητικό DGV - 36 όχι γενετικό έλεγχο /θάνατος, κοιλιακές αρρυθμίες, υποτροπή και ΚΑ στους ασθενείς με +DGV | CMR ή EMB                                                   | Μυοκαρδίτιδα 8 (22%), ARVC 4 (11%), SCD/αποτραπέν SCD< 65ετών 6 (17%)                   | Έλεγχος στα γονίδια DSP, DSC2, DSG2, PKP2, JUP                                                             | Υψηλότερος κίνδυνος θανάτου, αρρυθμιών, υποτροπής και ΚΑ στους ασθενείς με θετικό DGV                                                                       |
| <b>Lota (2022) (103)</b>                            | 336 ασθενείς με μυοκαρδίτιδα (κοορπή Λονδίνου=230, κοορπή Maastricht=106) vs 1053 ομάδα ελέγχου/ ολική θνητότητα                                                                               | CMR ή EMB                                                   | Λονδίνο: SCD 5 (2%), μυοκαρδίτιδα 7 (3%), Maastricht: DCM ή SCD 2 (2%)                  | Λονδίνο: 169 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια, Maastricht: 47 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια | 27 (8%) φορείς DCM- ή ACM-γενετική παραλλαγή και είχαν χειρότερη πρόγνωση από τους αρνητικούς γονοτυπικά ασθενείς                                           |
| <b>Seidel (2022) (108)</b>                          | 12 παιδιατρικοί ασθενείς με μυοκαρδίτιδα+DCM/ συχνότητα γονιδίων αυτοανοσίας ή μυοκαρδιοπάθειας σε παιδιά και γονείς                                                                           | EMB                                                         | N/A                                                                                     | 89 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια and 631 γονίδια αυτοανοσίας                                      | 8 (67%) παιδιά είχαν P/LP σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια, 3 (25%) είχαν ετερόζυγη παραλλαγή σε υπολειπόμενα γονίδια αυτοανοσίας                             |
| <b>Tiron (2022) (106)</b>                           | 28 με μυοκαρδίτιδα/ επιπολασμός γονιδίου μυοκαρδιοπάθειας                                                                                                                                      | CMR ή EMB                                                   | Μυοκαρδιοπάθεια 2 (7%) (ACM+DCM)                                                        | 71 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια                                                                  | 5 (18%) φορείς P/LP (33% των ασθενών με σοβαρή μυοκαρδίτιδα και 6% λιγότερο σοβαρής)                                                                        |
| <b>Van der Meulen (2022) (115)</b>                  | 7 παιδιατρικοί ασθενείς με DCM από μυοκαρδίτιδα/γονότυπος                                                                                                                                      | N/A                                                         | N/A                                                                                     | 28 ή 70 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια                                                             | 1 (14%) είχε παθογόνο παραλλαγή στο γονίδιο LMNA                                                                                                            |
| <b>Marinas conference abstract (2023) (111)</b>     | 89 ασθενείς με μυοκαρδίτιδα ή φλεγμονώδη μυοκαρδιοπάθεια/γονότυπος                                                                                                                             | EMB                                                         | Μυοκαρδιοπάθεια ή SCD 13 (65%) των θετικών γονότυπων                                    | 200 γονίδια-σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια                                                                 | 20 (22%) φορείς P/LP                                                                                                                                        |
| <b>Boulet (2024) (109)</b>                          | 3176 ασθενείς με μυοκαρδίτιδα vs 31760 ομάδα ελέγχου/επιπολασμός συγγενών α' βαθμού με DCM και ΚΑ                                                                                              | Κλινική υποψία                                              | DCM 13-15 (0.4-0.5%), ΚΑ 246 (8%)                                                       | N/A                                                                                                        | Οι ασθενείς με μυοκαρδίτιδα είχαν πιο συχνά αδέρφια με DCM, χωρίς διαφορά στους γονείς. Η παρουσία οικογενειακού ιστορικού σχετιζόταν με χειρότερη πρόγνωση |

EMB: ενδομυοκαρδιακή βιοψία; ΚΑ: καρδιακή ανεπάρκεια; ACM: arrhythmogenic cardiomyopathy; AF: atrial fibrillation; CMR: computed magnetic resonance; DCM: dilated cardiomyopathy; DGV: desmosomal gene variant; N/A: not applicable; PCR: polymerase chain reaction; P/LP: pathogenic/likely pathogenic; RV: right ventricle; SCD: sudden cardiac death.

# ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## Κεφάλαιο 2

### 2.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί η συχνότητα ανεύρεσης γενετικών παραλλαγών σε γονίδια που σχετίζονται με μυοκαρδιοπάθειες σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα και οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου θανάτου. Ακόμα, θα εξεταστεί η πιθανή συσχέτιση του θετικού γονότυπου με την κλινική εικόνα, ΗΚΓ αλλοιώσεις, υπερηχογραφικούς δείκτες και το πρότυπο ίνωσης στη μαγνητική καρδιάς.

### 2.2 Μεθοδολογία

#### 2.2.1 Πληθυσμός της μελέτης

Ασθενείς από την καταγραφή της μυοκαρδίτιδας της Μονάδας Κληρονομικών και Σπάνιων Παθήσεων της Καρδιάς του Ωνάσειου Καρδιοχειρουργικού Κέντρου από το 2010 έως το 2024, με οξεία μυοκαρδίτιδα σύμφωνα με τα κριτήρια της Ομάδας Εργασίας της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας για τις παθήσεις του μυοκαρδίου του 2013, οι οποίοι είχαν στο ιστορικό τους συγγενή έως 2<sup>ου</sup> βαθμού, ηλικίας < 40 ετών που είχε αιφνίδιο καρδιακό θάνατο, εντάχθηκαν στη μελέτη.

#### 2.2.2 Καταληκτικά σημεία

Πρωτογενές καταληκτικό σημείο ορίστηκε η συχνότητα εμφάνισης παθογόνου/ πιθανά παθογόνου παραλλαγής σε γονίδιο σχετιζόμενο με μυοκαρδιοπάθεια. Δευτερογενή σημεία έχουν οριστεί τα ακόλουθα:

- Η σχέση του θετικού γονότυπου με στοιχεία όπως:
  - ο Ηλικία κατά την κλινική παρουσίαση
  - ο ΗΚΓ αλλοιώσεις (χαμηλά δυναμικά, κύματα Q, αναστροφή κυμάτων T)
  - ο Παρουσία αρρυθμιών και η προέλευσή τους
  - ο Παρουσία κολποκοιλιακού αποκλεισμού, παύσεων
  - ο Υπερηχογραφικοί δείκτες, όπως κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας, διάταση αριστερής κοιλίας, υποκινητικά τμήματα

- ο Δυσλειτουργία δεξιάς κοιλίας
- ο Στοιχεία της μαγνητικής καρδιάς (LGE πρότυπο, έκταση ίνωσης).
- Ακόμα, θα διερευνηθεί η συχνότητα ύπαρξης γονιδίων που έχουν συσχετιστεί με κακή πρόγνωση, όπως RBM20, LMNA, DSP, PLN και FLNC και η πιθανή τους σχέση με ειδική εικόνα παρουσίασης, όπως περιγράφεται παραπάνω. (116)

### **2.2.3 Στατιστική ανάλυση**

Οι συνεχείς μεταβλητές εκφράστηκαν είτε ως μέσος όρος (τυπική απόκλιση), είτε ως διάμεση τιμή (ενδοτεταρτημοριακό εύρος) και η κανονικότητα της κατανομής τους εξετάστηκε με τη δοκιμασία Shapiro Wilk. Οι κατηγορικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως συχνότητα (ποσοστό). Για τις συγκρίσεις μεταξύ των διαφορετικών ομάδων ασθενών χρησιμοποιήθηκε το Wilcoxon rank sum test και το Fisher's exact test. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε στο στατιστικό πακέτο R (version 4.4.2) και τα γραφήματα δημιουργήθηκαν με τη βιβλιοθήκη 'ggplot2'.

## **Κεφάλαιο 3**

### **3.1 Αποτελέσματα**

#### **3.1.1 Βασικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού**

Η συγκεκριμένη ανάλυση περιέλαβε 20 ασθενείς. Τα βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4**. Η διάμεση ηλικία ήταν τα 38 έτη και το 45% ήταν άρρενες. Σε έναν ασθενή η διάγνωση ετέθη με ενδομυοκαρδιακή βιοψία, ενώ στους υπόλοιπους με συνδυασμό των διαγνωστικών κριτηρίων (14 ασθενείς υπεβλήθησαν σε μαγνητική καρδιάς). Οι μισοί ασθενείς είχαν σαν πρώτη εκδήλωση οξεία καρδιακή ανεπάρκεια, ενώ σε 25% η μυοκαρδίτιδα παρουσιάστηκε ως οξύ στεφανιαίο σύνδρομο. Κανείς ασθενής δεν παρουσίασε υποτροπιάζουσα μυοκαρδίτιδα κατά το διάστημα της μελέτης. Με βάση τα κριτήρια ένταξης στη συγκεκριμένη ανάλυση, όλοι οι ασθενείς είχαν στο οικογενειακό ιστορικό τους αιφνίδιο καρδιακό θάνατο και επιπλέον 55% είχαν ιστορικό μυοκαρδιοπάθειας ή μυοκαρδίτιδας σε συγγενείς 1<sup>ου</sup> ή 2<sup>ου</sup> βαθμού. Σε 30% των ασθενών καταγράφηκε αναστροφή κυμάτων T στις πλάγιες απαγωγές, 25% στις πρόσθιες και 20% στις κατώτερες, ενώ 15% εμφάνισε ενδοκοιλιακή καθυστέρηση της αγωγιμότητας και 15% υψηλού βαθμού κολποκοιλιακό αποκλεισμό. Κοιλιακές έκτακτες συστολές παρουσίασε το 70% των ασθενών, με την πλειοψηφία να προέρχονται από τη δεξιά κοιλία με βάση τις ΗΚΓ καταγραφές, ενώ σύμπλοκες κοιλιακές αρρυθμίες παρατηρήθηκαν σε

60% αυτών. Το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας ήταν 50% και οι διαστάσεις της αριστερής κοιλίας στην τελοδιαστολή ήταν 51.5 mm. Δυσλειτουργία της δεξιάς κοιλίας παρατηρήθηκε σε 30% των ασθενών και ίνωση στη μαγνητική κατεγράφη σε 6 από τους 14 στους οποίους διενεργήθη η μελέτη.

**Πίνακας 4.** Βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης.

|                                |                           |
|--------------------------------|---------------------------|
|                                | <b>N = 20<sup>1</sup></b> |
| <b>Ηλικία</b>                  | 38 (28, 44)               |
| <b>Φύλο</b>                    |                           |
| Θήλυ                           | 11 (55%)                  |
| Άρρεν                          | 9 (45%)                   |
| <b>Κλινική εκδήλωση</b>        |                           |
| Ομοιάζουσα με ΟΣΣ              | 5 (25%)                   |
| Οξεία ΚΑ                       | 10 (50%)                  |
| Χρόνια ΚΑ                      | 2 (10%)                   |
| Σοβαρή αρρυθμία                | 3 (15%)                   |
| <b>Οικογενειακό ιστορικό</b>   |                           |
| Αιφνίδιου καρδιακού θανάτου    | 20 (100%)                 |
| Μυοκαρδιοπάθειας/μυοκαρδίτιδας | 11 (55%)                  |
| <b>Αρρυθμίες</b>               |                           |
| Κοιλιακές έκτακτες συστολές    | 15 (75%)                  |
| <b>Εργαστηριακός έλεγχος</b>   |                           |
| Αυξημένα επίπεδα τροπονίνης    | 17 (85%)                  |
| <b>Υπερηχογραφικοί δείκτες</b> |                           |
| LVEF                           | 50 (45, 60)               |
| <b>Μαγνητική καρδιάς</b>       | 14 (70%)                  |

<sup>1</sup> n (%); Διάμεσος (ενδοτεταρτημοριακό εύρος Q1, Q3)

ΚΑ: καρδιακή ανεπάρκεια; ΟΣΣ: οξύ στεφανιαίο σύνδρομο; LVEF: left ventricular ejection fraction, κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας.

### **3.1.2 Συχνότητα ανεύρεσης γονιδίου σχετιζόμενου με μυοκαρδιοπάθεια**

Σε 65% των ασθενών της μελέτης ανευρέθη P/LP γενετική παραλλαγή σε γονίδιο σχετιζόμενο με μυοκαρδιοπάθεια. Οι ασθενείς αυτοί είχαν διάμεση ηλικία 38 έτη έναντι 26 έτη αυτών με αρνητικό γονότυπο. Επιπλέον, στους ασθενείς με θετικό γονότυπο, κατεγράφη μια τάση

για αυξημένη συχνότητα χαμηλών δυναμικών στο ΗΚΓ και διαταραχών αγωγής, όπως υψηλού βαθμού κολποκοιλιακός αποκλεισμός και ενδοκοιλιακή καθυστέρηση της αγωγής. Επίσης, οι ασθενείς με θετικό γονότυπο παρουσίασαν μια τάση για χαμηλότερο LVEF. Δεν κατεγράφη σημαντική διαφορά στο τοίχωμα της αριστερής κοιλίας που κατά προτίμηση προσβλήθηκε, ούτε ανεδείχθη ειδικό πρότυπο ίνωσης στη μαγνητική καρδιάς ανάμεσα στις δυο ομάδες. Επιπλέον, δεν ανεδείχθη διαφορά στα άτομα που παρουσίασαν χαμηλό LVEF, δηλαδή LVEF<40%, ούτε στις σύμπλοκες κοιλιακές αρρυθμίες μεταξύ των δυο ομάδων. Τα κύρια αποτελέσματα της ανάλυσης για τις δύο ομάδες περιγράφονται στον **Πίνακα 5**.

**Πίνακας 5.** Σύγκριση ασθενών με θετικό γονότυπο έναντι αυτών με αρνητικό γονότυπο.

|                                   | Θετικός γονότυπος   | Αρνητικός γονότυπος | p-value <sup>2</sup> |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
|                                   | N = 13 <sup>1</sup> | N = 7 <sup>1</sup>  |                      |
| <b>Ηλικία</b>                     | 38 (32, 40)         | 26 (22, 54)         | 0.8                  |
| <b>Φύλο</b>                       |                     |                     | >0.9                 |
| Θήλυ                              | 7 (54%)             | 4 (57%)             |                      |
| Άρρεν                             | 6 (46%)             | 3 (43%)             |                      |
| <b>Κλινική εκδήλωση</b>           |                     |                     | 0.2                  |
| Ομοιάζουσα με ΟΣΣ                 | 4 (31%)             | 1 (14%)             |                      |
| Οξεία ΚΑ                          | 4 (31%)             | 6 (86%)             |                      |
| Χρόνια ΚΑ                         | 2 (15%)             | 0 (0%)              |                      |
| Σοβαρή αρρυθμία                   | 3 (23%)             | 0 (0%)              |                      |
| <b>Οικογενειακό ιστορικό</b>      |                     |                     |                      |
| Αιφνίδιου καρδιακού θανάτου       | 13 (100%)           | 7 (100%)            |                      |
| Μυοκαρδιοπάθειας/μυοκαρδίτιδας    | 7 (54%)             | 4 (57%)             | >0.9                 |
| <b>ΗΚΓ</b>                        |                     |                     |                      |
| Καθυστέρηση ενδοκοιλιακής αγωγής  | 3 (23%)             | 0 (0%)              | 0.5                  |
| Υψηλού βαθμού ΚΚΑ                 | 3 (23%)             | 0 (0%)              | 0.5                  |
| 1 <sup>ο</sup> ΚΚΑ                | 3 (23%)             | 2 (29%)             | >0.9                 |
| Αναστροφή Τ σε πλάγιες απαγωγές   | 4 (31%)             | 2 (29%)             | >0.9                 |
| Αναστροφή Τ σε κατώτερες απαγωγές | 3 (23%)             | 1 (14%)             | >0.9                 |

|                                  |                   |                   |      |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|------|
| Αναστροφή T σε πρόσθιες απαγωγές | 3 (23%)           | 2 (29%)           | >0.9 |
| Χαμηλά δυναμικά                  | 7 (54%)           | 2 (29%)           | 0.4  |
| Κύματα Q                         | 2 (15%)           | 0 (0%)            | 0.5  |
| <b>Αρρυθμίες</b>                 |                   |                   |      |
| Κοιλιακές έκτακτες συστολές      | 11 (85%)          | 4 (57%)           | 0.11 |
| Σύμπλοκες κοιλιακές αρρυθμίες    | 7 (54%)           | 5 (71%)           | 0.6  |
| NSVT                             | 7 (54%)           | 4 (57%)           | >0.9 |
| VT                               | 4 (31%)           | 1 (14%)           | 0.6  |
| AF                               | 2 (15%)           | 1 (14%)           | >0.9 |
| <b>Εργαστηριακός έλεγχος</b>     |                   |                   |      |
| Τροπονίνη                        | 12 (92%)          | 5 (71%)           | 0.8  |
| <b>Υπερηχογραφικοί δείκτες</b>   |                   |                   |      |
| LVEF                             | 50 (45, 60)       | 60 (45, 65)       | 0.7  |
| HFrEF                            | 2 (15%)           | 1 (14%)           | >0.9 |
| LVEDD (mm)                       | 52.0 (49.0, 54.0) | 50.0 (46.0, 60.0) | 0.5  |
| Διάταση LV                       | 6 (46%)           | 2 (29%)           | 0.6  |
| Δυσλειτουργία RV                 | 4 (31%)           | 2 (29%)           | >0.9 |
| Μαγνητική καρδιάς                | 8 (62%)           | 6 (86%)           | 0.4  |
| Ίνωση                            | 7 (54%)           | 5 (71%)           | 0.6  |
| Κυκλοτερής                       | 1 (7.7%)          | 1 (14%)           | >0.9 |
| Υποεπικαρδιακή                   | 5 (38%)           | 4 (57%)           | 0.6  |
| Μεσοτοιχωματική                  | 4 (31%)           | 4 (57%)           | 0.4  |
| Οίδημα                           | 2 (15%)           | 1 (14%)           | >0.9 |

<sup>1</sup> n (%); Median (Q1, Q3)

<sup>2</sup> Fisher's exact test; Wilcoxon rank sum test

ΗΚΓ: ηλεκτροκαρδιογράφημα; ΚΑ: καρδιακή ανεπάρκεια; ΚΚΑ: κολποκοιλιακός αποκλεισμός; ΟΣΣ: οξύ στεφανιαίο σύνδρομο; AF: atrial fibrillation, κοιλική μορμορρηγή; LVEDD: left ventricular end diastolic diameter, τελοδιαστολική διάμετρος; LVEF: left ventricular ejection fraction, κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας; NSVT: non sustained ventricular tachycardia, μη εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία; RV: right ventricle, δεξιά κοιλία; VT: ventricular tachycardia, κοιλιακή ταχυκαρδία.

### 3.1.3 Κατανομή γονιδίων στους ασθενείς με θετικό γονότυπο

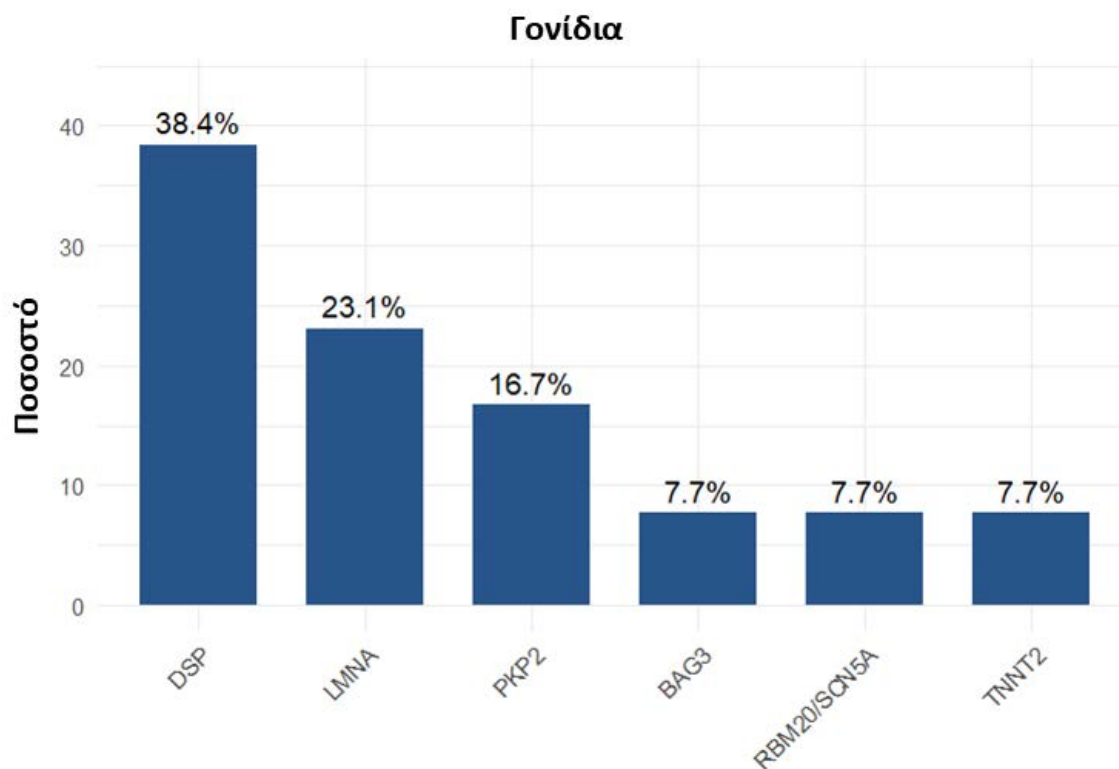
Η κατανομή των γονιδίων στους ασθενείς με θετικό γονότυπο φαίνεται στον **Πίνακα 6**, ενώ συχνότερα ανευρέθηκαν P/LP στην DSP (5 στους 13 ασθενείς), σε LMNA (3 στους 13 ασθενείς) και σε PKP2 (2 ασθενείς) (**Εικόνα 5**).

**Πίνακας 6.** Κατανομή γονιδίων στους ασθενείς με θετικό γονότυπο.

| Γονίδιο     | Συχνότητα (%) |
|-------------|---------------|
| DSP         | 5 (38%)       |
| LMNA        | 3 (23%)       |
| PKP2        | 2 (15%)       |
| RBM20/SCN5A | 1 (7.7%)      |
| TNNT2       | 1 (7.7%)      |
| BAG3        | 1 (7.7%)      |

BAG3: BAG family molecular chaperone regulator 3; DSP: δεσμοπλακίνη; LMNA: λαμίνη; PKP2: πλακοφιλίνη-2; RBM20: RNA-δεσμευτική πρωτεΐνη 20; SCN5A: πρωτεΐνη διαύλων νατρίου, υπομονάδα άλφα; TNNT2: τροπονίνη T2.

**Εικόνα 3.** Τα γονίδια που ανευρέθηκαν με φθίνουσα σειρά συχνότητας.



BAG3: BAG family molecular chaperone regulator 3; DSP: δεσμοπλακίνη; LMNA: λαμίνη; PKP2: πλακοφιλίνη-2; RBM20: RNA-δεσμευτική πρωτεΐνη 20; SCN5A: πρωτεΐνη διαύλων νατρίου, υπομονάδα άλφα; TNNT2: τροπονίνη T2.

Γονίδια που έχουν συσχετιστεί με κακή πρόγνωση, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας, όπως LMNA, RBM20, DSP βρέθηκαν σε 9 από τους 13 ασθενείς με θετικό γονότυπο (69%). Κατά τη σύγκριση των ασθενών με παρουσία γονιδίου σχετιζόμενου με κακή πρόγνωση έναντι των γονοτυπικά αρνητικών ασθενών, φάνηκε μια τάση για ύπαρξη χαμηλότερων δυναμικών στο ΗΚΓ και χαμηλότερο LVEF. Αντιθέτως, δεν παρατηρήθηκε διαφορά στη δυσλειτουργία της δεξιάς κοιλίας, την κακοήθη αρρυθμογένεια ή το πρότυπο της ίνωσης (Πίνακας 7).

**Πίνακας 7.** Σύγκριση χαρακτηριστικών ασθενών με ανίχνευση γονιδίου κακής πρόγνωσης έναντι ασθενών με αρνητικό γονότυπο.

|                                      | Παρουσία γονιδίου που<br>σχετίζεται με κακή<br>πρόγνωση<br>N = 9 <sup>1</sup> | Αρνητικός<br>γονότυπος<br>N = 7 <sup>1</sup> | p-value <sup>2</sup> |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------|
| <b>Φύλο</b>                          |                                                                               |                                              | >0.9                 |
| Θήλυ                                 | 6 (67%)                                                                       | 4 (57%)                                      |                      |
| Άρρεν                                | 3 (33%)                                                                       | 3 (43%)                                      |                      |
| <b>Κλινική εκδήλωση</b>              |                                                                               |                                              | 0.2                  |
| Ομοιάζουσα με ΟΣΣ                    | 3 (33%)                                                                       | 1 (14%)                                      |                      |
| Οξεία ΚΑ                             | 3 (33%)                                                                       | 6 (86%)                                      |                      |
| Χρόνια ΚΑ                            | 2 (22%)                                                                       | 0 (0%)                                       |                      |
| Σοβαρή αρρυθμία                      | 1 (11%)                                                                       | 0 (0%)                                       |                      |
| <b>ΗΚΓ</b>                           |                                                                               |                                              |                      |
| Καθυστερήση ενδοκοιλιακής<br>αγωγής  | 3 (33%)                                                                       | 0 (0%)                                       | 0.2                  |
| Υψηλού βαθμού ΚΚΑ                    | 2 (22%)                                                                       | 0 (0%)                                       | 0.5                  |
| 1 <sup>ο</sup> ΚΚΑ                   | 1 (11%)                                                                       | 2 (29%)                                      | 0.6                  |
| Αναστροφή Τ σε πλάγιες απαγωγές      | 3 (33%)                                                                       | 2 (29%)                                      | >0.9                 |
| Αναστροφή Τ σε κατώτερες<br>απαγωγές | 3 (33%)                                                                       | 1 (14%)                                      | 0.6                  |
| Αναστροφή Τ σε πρόσθιες<br>απαγωγές  | 1 (11%)                                                                       | 2 (29%)                                      | 0.6                  |
| Χαμηλά δυναμικά                      | 5 (56%)                                                                       | 2 (29%)                                      | 0.4                  |

|                                |                   |                   |      |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|------|
| Κύματα Q                       | 2 (22%)           | 0 (0%)            | 0.5  |
| <b>Αρρυθμίες</b>               |                   |                   |      |
| Σύμπλοκες κοιλιακές αρρυθμίες  | 5 (56%)           | 5 (71%)           | 0.6  |
| NSVT                           | 5 (56%)           | 4 (57%)           | >0.9 |
| VT                             | 2 (22%)           | 1 (14%)           | >0.9 |
| AF                             | 2 (22%)           | 1 (14%)           | >0.9 |
| <b>Εργαστηριακός έλεγχος</b>   |                   |                   |      |
| Τροπονίνη                      | 9 (100%)          | 5 (71%)           | 0.7  |
| <b>Υπερηχογραφικοί δείκτες</b> |                   |                   |      |
| LVEF                           | 50 (50, 50)       | 60 (45, 65)       | 0.6  |
| LVEDD (mm)                     | 50.0 (46.0, 60.0) | 52.0 (49.0, 54.0) | 0.5  |
| Δυσλειτουργία RV               | 2 (22%)           | 2 (29%)           | >0.9 |
| Μαγνητική καρδιάς              | 5 (56%)           | 6 (86%)           | 0.3  |
| <b>Ίνωση</b>                   |                   |                   |      |
| Κυκλοτερής ίνωση               | 1 (11%)           | 1 (14%)           | >0.9 |
| Υποεπικαρδιακή                 | 4 (57%)           | 4 (44%)           | >0.9 |
| Μεσοτοιχωματική                | 4 (57%)           | 3 (33%)           | 0.6  |
| Οίδημα                         | 1 (14%)           | 2 (22%)           | >0.9 |

ΗΚΓ: ηλεκτροκαρδιογράφημα; ΚΑ: καρδιακή ανεπάρκεια; ΚΚΑ: κολποκοιλιακός αποκλεισμός; ΟΣΣ: οξύ στεφανιαίο σύνδρομο; ΑF: atrial fibrillation, κοιλική μαρμαρυγή; LVEDD: left ventricular end diastolic diameter, τελοδιαστολική διάμετρος; LVEF: left ventricular ejection fraction, κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας; NSVT: non sustained ventricular tachycardia, μη εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία; RV: right ventricle, δεξιά κοιλία; VT: ventricular tachycardia, κοιλιακή ταχυκαρδία.

## Κεφάλαιο 4

### 4.1 Συζήτηση

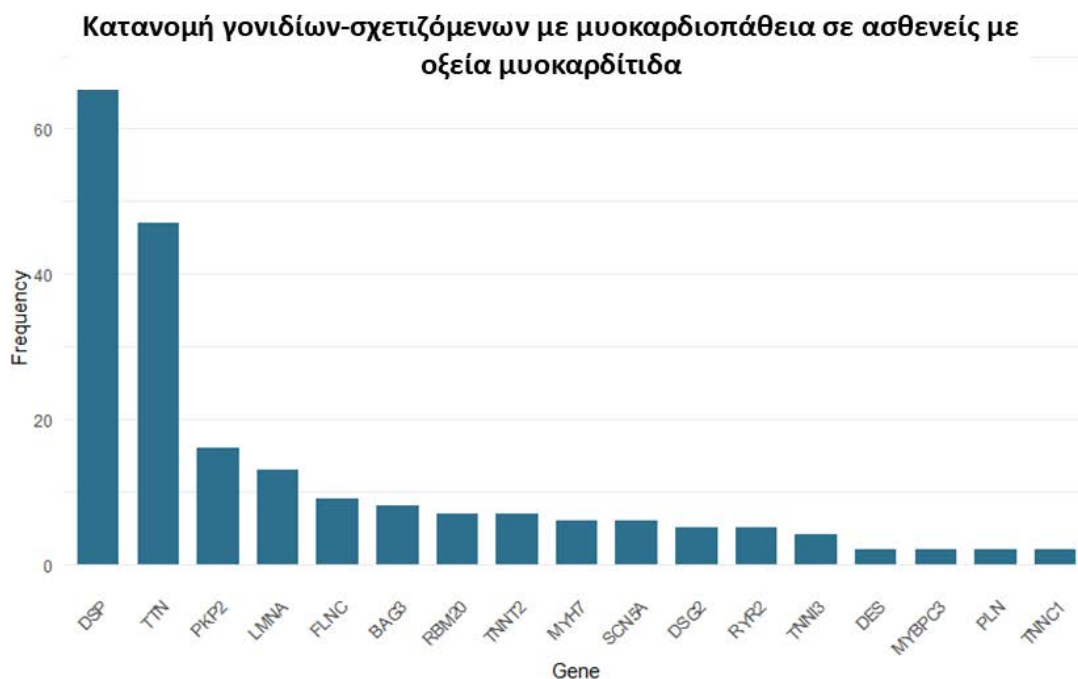
Σύμφωνα με τις πρόσφατες μελέτες που διερευνούν τη συχνότητα ανίχνευσης παθογόνων παραλλαγών σε γονίδια σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια, ο επιπολασμός κυμαίνεται ανάλογα με τον πληθυσμό που επιλέγεται. Στην πρόσφατη μετα-ανάλυση 8 μελετών του Monda και των συνεργατών, φάνηκε ότι σε ασθενείς με ανεπίπλεκη μυοκαρδίτιδα η συχνότητα ανίχνευσης παθογόνων γενετικών παραλλαγών είναι μόλις 4%, ενώ σε ασθενείς που παρουσιάζονται με καρδιακή ανεπάρκεια, έκπτωση LVEF ή επικίνδυνες κοιλιακές αρρυθμίες φθάνει το 22% στους ενήλικες και το 45% στα παιδιά. (117) Ειδικά, σε ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό μυοκαρδιοπάθειας ή αιφνίδιου καρδιακού θανάτου, στη μελέτη του Piriou και των συνεργατών, η ανεύρεση παθογόνου γενετικής παραλλαγής ήταν 100%. Αντίστοιχα, σε 78% των ασθενών με μυοκαρδίτιδα και ύποπτο καρδιολογικό ιστορικό (όπως προέκυψε από τη λήψη ιστορικού και καρδιολογικής εξέτασης των συγγενών έως 2<sup>ου</sup> βαθμού), αναδείχθηκαν γενετικές παραλλαγές σε γονίδια σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθεια. (114) Φαίνεται λοιπόν, στις υπάρχουσες μελέτες ανάλογα με την επιλογή του πληθυσμού μπορεί να βελτιωθεί η προβλεπτική ικανότητα του γενετικού ελέγχου σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα. Στην παρούσα μελέτη, επιλέχθηκαν ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα και οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου θανάτου από την καταγραφή της Μονάδας Κληρονομικών και Σπάνιων Παθήσεων της Καρδιάς του Ωνάσειου Νοσοκομείου. Η συχνότητα εμφάνισης P/LP γενετικής παραλλαγής στην παρούσα μελέτη έφτασε το 65%, όπου σε συμφωνία με τις υπάρχουσες μελέτες, ξεπερνά κατά πολύ τη συχνότητα ανεύρεσης σε πληθυσμούς χωρίς την ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού.

Να σημειωθεί επίσης, ότι ενώ η συμβολή των ανδρών επιδημιολογικά είναι μεγαλύτερη στις περιπτώσεις μυοκαρδίτιδας, (9) στην παρούσα μελέτη υπάρχει μια τάση για αντιστροφή της σχέσης υπέρ των γυναικών, ιδιαίτερα στη σύγκριση της ομάδας με γονίδιο κακής πρόγνωσης σε σχέση με τους ασθενείς με αρνητικό γονότυπο (**Πίνακας 7**). Αντίστοιχα, στη μελέτη του Ammirati και συνεργατών, φάνηκε ότι περισσότερες γυναίκες ήταν στην ομάδα της μυοκαρδίτιδας με θετικό γονότυπο σε σχέση με την ομάδα της μυοκαρδίτιδας με αρνητικό ή χωρίς γονότυπο. Γνωρίζουμε, ότι στις μυοκαρδιοπάθειες που ακολουθείται κυρίως αυτοσωμικό επικρατές πρότυπο κληρονομικής, όπως στα σαρκομερικά, τα δεσμοσωμικά γονίδια ή γονίδια του κυτταροσκελετού, η κατανομή είναι σχετικά ισότιμη μεταξύ των φύλων.

Ακόμα, αξίζει να σημειωθεί ότι τα στοιχεία που παρουσίασαν τη μεγαλύτερη τάση επικράτησης στην ομάδα των ασθενών με θετικό γονότυπο έναντι της ομάδας με αρνητικό γονότυπο ήταν τα χαμηλά δυναμικά στο ΗΚΓ και το σχετικά χαμηλότερο κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλιάς, παραμένοντας εντούτοις στην κατηγορία του διατηρημένου LVEF (heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF). Τα χαμηλά δυναμικά στο ΗΚΓ που συχνά απαντούν σε δεσμοσωμικές μεταλλάξεις, μπορεί να υποδηλώνουν την ύπαρξη γενετικού υποστρώματος σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα. Αυτό το χαρακτηριστικό έχει συμπεριληφθεί και στο διαγνωστικό αλγόριθμο που προτείνεται στην **Εικόνα 2**.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η κατανομή των γονιδίων στους ασθενείς της μελέτης. Πιο συχνά ανευρέθησαν P/LP γενετικές παραλλαγές στο γονίδιο της δεσμοπλακίνης, εύρημα που είναι σε συμφωνία με την υπάρχουσα βιβλιογραφία. Στην **Εικόνα 4** παρουσιάζονται τα συχνότερα ευρισκόμενα γονίδια σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα, από τις μελέτες του **Πίνακα 3**. Είναι γνωστό ότι η δεσμοπλακίνη προκαλεί μια ειδική μορφή μυοκαρδιοπάθειας με ίνωση της αριστερής κοιλιάς και υψηλή επίπτωση κοιλιακών ταχυκαρδιών (78). Σε 35% των ασθενών με γενετική παραλλαγή δεσμοπλακίνης ανευρίσκεται καθυστερημένη ενίσχυση του γαδολινίου (late gadolinium enhancement, LGE), ενώ έχουν φυσιολογικό LVEF. Αυτό το εύρημα αποκτά ιδιαίτερη σημασία, αν συνυπολογίσουμε την αποδεδειγμένη σχέση της ίνωσης με τη θνητότητα και τον αιφνίδιο καρδιακό θάνατο. (118) Γνωρίζουμε, επίσης από μια μεγάλη κοορτή αιφνίδιου καρδιακού θανάτου, ότι στην πλειοψηφία των ασθενών που ανεδείχθη ACM κατά τη νεκροτομή, υπήρχε συμμετοχή της αριστερής κοιλιάς. (119) Τα παραπάνω δεδομένα σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, όπου το 38.4% των ασθενών με οξεία μυοκαρδίτιδα και οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου καρδιακού θανάτου είχαν DSP, υπογραμμίζουν το ρόλο της διενέργειας γενετικού ελέγχου, ώστε να ακολουθεί έλεγχος της οικογένειας και να προλαμβάνονται περιπτώσεις αιφνίδιου θανάτου, που θα μπορούσαν να διαλάβουν βασιζόμενοι σε μια απλή καρδιολογική εξέταση, λόγω ανεύρεσης φυσιολογικού κλάσματος εξώθησης αριστερής κοιλιάς.

**Εικόνα 4.** Κατανομή των γενετικών παραλλαγών σε γονίδια σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθειες σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα- δεδομένα από την παρούσα καταγραφή και τις μελέτες του Πίνακα 3.



BAG3: BAG family molecular chaperone regulator 3; DES: δεσμίνη; DSG2: δεσμογλεΐνη-2; DSP: δεσμοπλακίνη; FLNC: φιλαμίνη C; LMNA: λαμίνη; MYBPC3: myosin binding protein C3; MYH7: βαριά άλυσος της μυοσίνης; PKP2: πλακοφιλίνη-2; PLN: φωσφολαμβάνη; RBM20: RNA-δεσμευτική πρωτεΐνη 20; RYR2: υποδοχέας ρυανιδίνης 2; SCN5A: πρωτεΐνη διαύλων νατρίου, υπομονάδα άλφα; TTN: τιτίνη; TNNT2: τροπονίνη T2, TNNT3: τροπονίνη T3.

Να σημειωθεί ότι στην παρούσα μελέτη δεν ανευρέθη TTN που είναι η πιο συχνά ευρισκόμενη σαρκομερική μετάλλαξη σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα και θετικό γονότυπο. (117) Αυτό ίσως να εξηγείται από το γεγονός ότι η φυσική πορεία της τιτίνης κυρίως σχετίζεται με χαμηλότερο κλάσμα εξώθησης και συμβάματα σχετιζόμενα με καρδιακή ανεπάρκεια, όπως μεταμόσχευση, συσκευές υποβοήθησης αριστερής κοιλίας ή θάνατο από ανεπάρκεια αντλίας. (120) Συνεπώς, θα μπορούσε να υποθέσει κανείς ότι στη δική μας κοορτή όπου επιλέχθηκαν ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου καρδιακού θανάτου μόνο και όχι γνωστής μυοκαρδιοπάθειας, ίσως να εξαιρέθηκαν περιπτώσεις με τιτίνη των οποίων το οικογενειακό ιστορικό να περιελάμβανε καρδιακή ανεπάρκεια ή DCM.

Η φυσική πορεία των λαμινοπαθειών, αν και είναι ετερογενής ανάλογα με τη γενετική παραλλαγή που αφορά, γενικά χαρακτηρίζεται από έντονη αρρυθμιογένεια και μυοκαρδιοπάθεια. (121) Στην παρούσα μελέτη, ανευρέθη σε 3 άτομα (23%), ενώ στο σύνολο των μελετών του **Πίνακα 3**, αντιπροσωπεύει το 6% των περιπτώσεων. Και αυτό το εύρημα ίσως να εξηγείται από τον περιορισμό του πληθυσμού της μελέτης σε ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου καρδιακού θανάτου. Ομοίως, επεκτείνοντας την παρατήρηση, στην παρούσα μελέτη P/LP γενετικές παραλλαγές σε γονίδια που έχουν παραδοσιακά συσχετιστεί με κακή πρόγνωση αποτελούσαν την πλειοψηφία των ασθενών (69%). Από το σύνολο των μελετών του Πίνακα 3, λιγότεροι από τους μισούς ασθενείς (47%) παρουσιάζουν P/LP σε κλασικά κακής πρόγνωσης γονίδια.

Μεταξύ των ισχυρών σημείων της μελέτης συγκαταλέγονται η διερεύνηση μιας σπάνιας πάθησης, καθώς και η πραγματοποίηση γενετικού ελέγχου σε όλους τους συμμετέχοντες. Επιπλέον, καταγράφηκαν ταυτόχρονα και κλινικοεργαστηριακές παράμετροι για την εύρεση πιθανών συσχετίσεων.

## 4.2 Περιορισμοί μελέτης

Σημαντικός περιορισμός της παρούσας μελέτης ήταν το μικρό δείγμα ασθενών. Ακόμα, αξίζει να σημειωθεί ότι η διάγνωση στην πλειοψηφία των ασθενών ετέθη με συνδυασμό των κλινικών κριτηρίων, ενώ μόνο σε έναν πραγματοποιήθηκε μέσω EMB. Οι ασθενείς που εντάχθηκαν στη συγκεκριμένη ανάλυση, παραπέμφθηκαν στη Μονάδα Κληρονομικών και Σπάνιων Παθήσεων της Καρδιάς του Ωνάσειου Καρδιοχειρουργικού Κέντρου, που αποτελεί κέντρο αναφοράς για μυοκαρδιοπάθειες. Αυτό μπορεί να υποδηλώνει σφάλμα επιλογής (selection bias) αναφορικά με τη βαρύτητα, την εξέλιξη σε DCM ή άλλα επιβαρυντικά σημεία που οι θεράποντες έκριναν αρχικά σημαντικά για την παραπομπή και την περαιτέρω διερεύνηση των ασθενών.

## **Κεφάλαιο 5**

### **5.1 Συμπεράσματα**

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας ενισχύουν την υπόθεση που συσχετίζει την οξεία μυοκαρδίτιδα με τις γενετικές μυοκαρδιοπάθειες, στον ειδικό πληθυσμό των ατόμων με οξεία μυοκαρδίτιδα που έχουν οικογενειακό ιστορικό αιφνίδιου θανάτου. Στην εποχή της Ιατρικής Ακριβείας, ο γενετικός έλεγχος, εφόσον πληρούνται συγκεκριμένα κριτήρια, θα πρέπει να ενσωματωθεί στη σύγχρονη κλινική πρακτική, προκειμένου να συμβάλλει ουσιαστικά στη λήψη εξατομικευμένων θεραπευτικών αποφάσεων, στην πρόληψη του αιφνίδιου καρδιακού θανάτου, στον ενδεδειγμένο οικογενειακό έλεγχο- ώστε να εντοπίζονται εγκαίρως ασυμπτωματικοί φορείς- και στην πρόληψη περαιτέρω μετάδοσης των παθολογικών παραλλαγών με δυσμενή πρόγνωση μέσω προεμφυτευτικού ελέγχου.

### **5.2 Προτάσεις**

Ολοένα αυξανόμενα δεδομένα δείχνουν ότι η φλεγμονή παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση κάποιων μυοκαρδιοπαθειών, με τις περισσότερες ενδείξεις να υπάρχουν μέχρι σήμερα για την αρρυθμογόνο μυοκαρδιοπάθεια. Το αν η φλεγμονή/ μυοκαρδίτιδα αντιπροσωπεύει ένα ερέθισμα για την έκφραση του γενετικού υποστρώματος της μυοκαρδιοπάθειας ή/και αν αποτελεί το επιφανιόμενο ενός ευπαθούς μυοκαρδίου, δεν είναι ξεκάθαρο ακόμα και απαιτούνται μελλοντικές μελέτες σε κυτταρικό επίπεδο.

## Βιβλιογραφία

1. Basso C, Thiene G, Corrado D, Angelini A, Nava A, Valente M. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: Dysplasia, dystrophy, or myocarditis? *Circulation*. 1996;94(5).
2. Xiong D, Lee GH, Badorff C, Dörner A, Lee S, Wolf P, et al. Dystrophin deficiency markedly increases enterovirus-induced cardiomyopathy: A genetic predisposition to viral heart disease. *Nat Med*. 2002;8(8):872–7.
3. Aggarwal NR, Caforio ALP, Eyk JE Van, Bates K, Erwin JP. 2024 ACC Expert Consensus Decision Pathway on Strategies and Criteria for the Diagnosis and Management of Myocarditis. 2025;85(4).
4. Richardson P, McKenna RW, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O’Connell J, et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the definition and classification of cardiomyopathies. Vol. 93, *Circulation*. 1996.
5. Caforio ALP, Pankuweit S, Arbustini E, Basso C, Gimeno-Blanes J, Felix SB, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: A position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2013;34(33).
6. Gargano JW, Wallace M, Hadler SC, Langley G, Su JR, Oster ME, et al. Use of mRNA COVID-19 Vaccine After Reports of Myocarditis Among Vaccine Recipients: Update from the Advisory Committee on Immunization Practices — United States, June 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021;70(27).
7. Bonaca MP, Olenchok BA, Salem JE, Wiviott SD, Ederhy S, Cohen A, et al. Myocarditis in the Setting of Cancer Therapeutics: Proposed Case Definitions for Emerging Clinical Syndromes in Cardio-Oncology. *Circulation*. 2019;140(1).
8. Cooper LT, Keren A, Sliwa K, Matsumori A, Mensah GA. The global burden of myocarditis: Part 1: A systematic literature review for the global burden of diseases, injuries, and risk factors 2010 study. Vol. 9, *Global Heart*. 2014.
9. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019: Update From the GBD 2019 Study. Vol. 76, *Journal of the American College of Cardiology*. 2020.
10. Pahuja M, ADEGBALA O, MISHRA T, AKINTOYE E, CHEHAB OMAR, MONY S, et al. Trends in the Incidence of In-Hospital Mortality, Cardiogenic Shock, and Utilization of Mechanical Circulatory Support Devices in Myocarditis (Analysis of National Inpatient Sample Data, 2005–2014). *J Card Fail*. 2019;25(6).
11. Charpentier S, Beaune S, Joly LM, Khoury A, Duchateau FX, Briot R, et al. Management of chest pain in the French emergency healthcare system: The prospective observational EPIDOUULTHO study. *Eur J Emerg Med*. 2018;25(6).
12. Bhatia RT, Finocchiaro G, Westaby J, Chatrath N, Behr ER, Papadakis M, et al. Myocarditis and Sudden Cardiac Death in the Community: Clinical and Pathological Insights From a National Registry in the United Kingdom. Vol. 16, *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*. 2023.
13. Rizzo S, Carturan E, De Gaspari M, Pilichou K, Thiene G, Basso C. Update on cardiomyopathies and sudden cardiac death. Vol. 4, *Forensic Sciences Research*. 2019.
14. Finocchiaro G, Westaby J, Sheppard MN, Papadakis M, Sharma S. Sudden Cardiac Death in Young Athletes: JACC State-of-the-Art Review. Vol. 83, *Journal of the American College of Cardiology*. 2024.
15. Mahmood SS, Fradley MG, Cohen J V., Nohria A, Reynolds KL, Heinzerling LM, et al. Myocarditis in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitors. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(16).
16. Fairweather DL, Beetler DJ, Di Florio DN, Musigk N, Heidecker B, Cooper LT. COVID-19, Myocarditis and Pericarditis. Vol. 132, *Circulation Research*. 2023.
17. Nunes MCP, Beaton A, Acquatella H, Bern C, Bolger AF, Echeverría LE, et al. Chagas

- Cardiomyopathy: An Update of Current Clinical Knowledge and Management: A Scientific Statement From the American Heart Association. Vol. 138, *Circulation*. 2018.
18. Tschöpe C, Ammirati E, Bozkurt B, Caforio ALP, Cooper LT, Felix SB, et al. Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions. Vol. 18, *Nature Reviews Cardiology*. 2021.
  19. Iacucci M, De Silva S, Ghosh S. Mesalazine in inflammatory bowel disease: A trendy topic once again? Vol. 24, *Canadian Journal of Gastroenterology*. 2010.
  20. Giordani AS, Candelora A, Fiacca M, Cheng C, Barberio B, Baritussio A, et al. Myocarditis and inflammatory bowel diseases: A single-center experience and a systematic literature review. *Int J Cardiol*. 2023;376.
  21. Naqash AR, Moey MYY, Cherie Tan XW, Laharwal M, Hill V, Moka N, et al. Major Adverse Cardiac Events with Immune Checkpoint Inhibitors: A Pooled Analysis of Trials Sponsored by the National Cancer Institute - Cancer Therapy Evaluation Program. In: *Journal of Clinical Oncology*. 2022.
  22. Caforio ALP, Adler Y, Agostini C, Allanore Y, Anastasakis A, Arad M, et al. Diagnosis and management of myocardial involvement in systemic immune-mediated diseases: A position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Disease. *Eur Heart J*. 2017;38(35).
  23. Caforio ALP, Bonifacio E, Stewart JT, Neglia D, Parodi O, Bottazzo GF, et al. Novel organ-specific circulating cardiac autoantibodies in dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 1990;15(7).
  24. Wallukat G, Morwinski M, Kowal K, Forster A, Boewer V, Wollenberger A. Autoantibodies against the  $\beta$ -adrenergic receptor in human myocarditis and dilated cardiomyopathy:  $\beta$ -adrenergic agonism without desensitization. In: *European Heart Journal*. 1991.
  25. Warraich RS, Griffiths E, Falconar A, Pabbathi V, Bell C, Angelini G, et al. Human cardiac myosin autoantibodies impair myocyte contractility: a cause-and-effect relationship. *FASEB J*. 2006;20(6).
  26. Caforio ALP, Mahon NG, Baig MK, Tona F, Murphy RT, Elliott PM, et al. Prospective familial assessment in dilated cardiomyopathy: Cardiac autoantibodies predict disease development in asymptomatic relatives. *Circulation*. 2007;115(1).
  27. Warraich RS, Dunn MJ, Yacoub MH. Subclass specificity of autoantibodies against myosin in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: Pro-inflammatory antibodies in DCM patients. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;259(2).
  28. Caforio ALP, De Luca G, Baritussio A, Seguso M, Gallo N, Bison E, et al. Serum organ-specific anti-heart and anti-intercalated disk autoantibodies as new autoimmune markers of cardiac involvement in systemic sclerosis: Frequency, clinical and prognostic correlates. *Diagnostics*. 2021;11(11).
  29. Suna G, Kolios A, Chatterjee D, Fatah M, Gasperetti A, Casella M, et al. Anti-desmoglein2 autoantibodies are present in patients with cardiac sarcoidosis and correlate with cardiac inflammation. *EP Eur*. 2021;23(Supplement\_3).
  30. Chatterjee D, Fatah M, Akdis D, Spears DA, Koopmann TT, Mittal K, et al. An autoantibody identifies arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and participates in its pathogenesis. *Eur Heart J*. 2018;39(44).
  31. Yang P, Chen Z, Huang W, Zhang J, Zou L, Wang H. Communications between macrophages and cardiomyocytes. Vol. 21, *Cell Communication and Signaling*. 2023.
  32. Leuschner F, Courties G, Dutta P, Mortensen LJ, Gorbатов R, Sena B, et al. Silencing of CCR2 in myocarditis. *Eur Heart J*. 2015;36(23).
  33. Hou X, Chen G, Bracamonte-Baran W, Choi HS, Diny NL, Sung J, et al. The Cardiac Microenvironment Instructs Divergent Monocyte Fates and Functions in Myocarditis. *Cell Rep*. 2019;28(1).
  34. Valaperti A, Marty RR, Kania G, Germano D, Mauermann N, Dirnhofer S, et al. CD11b+ Monocytes Abrogate Th17 CD4+ T Cell-Mediated Experimental Autoimmune Myocarditis. *J Immunol*. 2008;180(4).

35. Weckbach LT, Grabmaier U, Uhl A, Gess S, Boehm F, Zehrer A, et al. Midkine drives cardiac inflammation by promoting neutrophil trafficking and NETosis in myocarditis. *J Exp Med.* 2019;216(2).
36. Diny NL, Baldeviano GC, Talor M V., Barin JG, Ong SF, Bedja D, et al. Eosinophil-derived IL-4 drives progression of myocarditis to inflammatory dilated cardiomyopathy. *J Exp Med.* 2017;214(4).
37. Lv HJ, Havari E, Pinto S, Gottumukkala RVSRK, Cornivelli L, Raddassi K, et al. Impaired thymic tolerance to  $\alpha$ -myosin directs autoimmunity to the heart in mice and humans. *J Clin Invest.* 2011;121(4).
38. Van Der Borcht K, Scott CL, Martens L, Sichien D, Van Isterdael G, Nindl V, et al. Myocarditis elicits dendritic cell and monocyte infiltration in the heart and self-antigen presentation by conventional type 2 dendritic cells. *Front Immunol.* 2018;9(NOV).
39. Guerra-De-Blas PDC, Cruz-González D, Martínez-Shio EB, González-Amaro R, González-Pacheco H, Layseca-Espinosa E, et al. Altered Phenotype of Circulating Dendritic Cells and Regulatory T Cells from Patients with Acute Myocarditis. *J Immunol Res.* 2022;2022.
40. Pistulli R, Andreas E, König S, Drobniak S, Kretzschmar D, Rohm I, et al. Characterization of dendritic cells in human and experimental myocarditis. *ESC Hear Fail.* 2020;7(5).
41. Machino-Ohtsuka T, Tajiri K, Kimura T, Sakai S, Sato A, Yoshida T, et al. Tenascin-C aggravates autoimmune myocarditis via dendritic cell activation and Th17 cell differentiation. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(6).
42. Vicenzetto C, Giordani AS, Menghi C, Baritussio A, Scognamiglio F, Pontara E, et al. Cellular Immunology of Myocarditis: Lights and Shades—A Literature Review. *Cells.* 2024;13(24).
43. Myers JM, Cooper LT, Kem DC, Stavrakis S, Kosanke SD, Shevach EM, et al. Cardiac myosin-Th17 responses promote heart failure in human myocarditis. *JCI Insight.* 2016;1(9).
44. Yan L, Hu F, Yan X, Wei Y, Ma W, Wang Y, et al. Inhibition of microRNA-155 ameliorates experimental autoimmune myocarditis by modulating Th17/Treg immune response. *J Mol Med.* 2016;94(9).
45. Zhou Z, Sun W, Liang Y, Gao Y, Kong W, Guan Y, et al. Fenofibrate inhibited the differentiation of T helper 17 cells in vitro. *PPAR Res.* 2012;
46. Baldeviano GC, Barin JG, Talor M V., Srinivasan S, Bedja D, Zheng D, et al. Interleukin-17A is dispensable for myocarditis but essential for the progression to dilated cardiomyopathy. *Circ Res.* 2010;106(10).
47. Yamashita T, Iwakura T, Matsui K, Kawaguchi H, Obana M, Hayama A, et al. IL-6-mediated Th17 differentiation through ROR $\gamma$ t is essential for the initiation of experimental autoimmune myocarditis. *Cardiovasc Res.* 2011;91(4).
48. Sonderegger I, Röhn TA, Kurrer MO, Iezzi G, Zou Y, Kastelein RA, et al. Neutralization of IL-17 by active vaccination inhibits of IL-23-dependent autoimmune myocarditis. *Eur J Immunol.* 2006;36(11).
49. Eriksson U, Kurrer MO, Schmitz N, Marsch SC, Fontana A, Eugster H Pietro, et al. Interleukin-6-deficient mice resist development of autoimmune myocarditis associated with impaired upregulation of complement C3. *Circulation.* 2003;107(2).
50. Hua X, Hu G, Hu Q, Chang Y, Hu Y, Gao L, et al. Single-cell RNA sequencing to dissect the immunological network of autoimmune myocarditis. *Circulation.* 2020;142(4).
51. Wu L, Ong SF, Talor M V., Barin JG, Baldeviano GC, Kass DA, et al. Cardiac fibroblasts mediate IL-17A-driven inflammatory dilated cardiomyopathy. *J Exp Med.* 2014;211(7).
52. Blanco-Domínguez R, Sánchez-Díaz R, de la Fuente H, Jiménez-Borreguero LJ, Matesanz-Marín A, Relañó M, et al. A Novel Circulating Noncoding Small RNA for the Detection of Acute Myocarditis. *N Engl J Med.* 2021;384(21).
53. Qing-Qing W, Yu-Lin W, Hai-Tao Y, Feng-Qin L, You-Peng J, Bo H. Immune tolerance to cardiac myosin induced by anti-CD4 monoclonal antibody in autoimmune myocarditis rats. *J Clin Immunol.* 2006;26(3):213–21.

54. Nindl V, Maier R, Ratering D, De Giuli R, Züst R, Thiel V, et al. Cooperation of Th1 and Th17 cells determines transition from autoimmune myocarditis to dilated cardiomyopathy. *Eur J Immunol*. 2012;42(9).
55. Daniels MD, Hyland K V., Wang K, Engman DM. Recombinant cardiac myosin fragment induces experimental autoimmune myocarditis via activation of Th1 and Th17 immunity. *Autoimmunity*. 2008;41(6).
56. Maier R, Miller S, Kurrer M, Krebs P, De Giuli R, Kremer M, et al. Quantification and characterization of myosin peptide-specific CD4 + T cells in autoimmune myocarditis. *J Immunol Methods*. 2005;304(1–2).
57. Song HK, Noorchashm H, Lin TH, Moore DJ, Greeley SA, Caton AJ, et al. Specialized CC-chemokine secretion by Th1 cells in destructive autoimmune myocarditis. *J Autoimmun*. 2003;21(4).
58. Afanasyeva M, Wang Y, Kaya Z, Park S, Zilliox MJ, Schofield BH, et al. Experimental autoimmune myocarditis in A/J mice is an interleukin-4-dependent disease with a Th2 phenotype. *Am J Pathol*. 2001;159(1).
59. Fuse K, Kodama M, Ito M, Okura Y, Kato K, Hanawa H, et al. Polarity of helper T cell subsets represents disease nature and clinical course of experimental autoimmune myocarditis in rats. *Clin Exp Immunol*. 2003;134(3).
60. Chen X, Zeng XH, Wang M, Chen L, Zhang N, Rao M, et al. Bcl2-Like Protein 12 Is Required for the Aberrant T Helper-2 Polarization in the Heart by Enhancing Interleukin-4 Expression and Compromising Apoptotic Machinery in CD4+ T Cells. *Circulation*. 2018;138(22).
61. Kong Q, Li X, Wu W, Yang F, Liu Y, Lai W, et al. Increased circulating T-helper 22 cells in patients with dilated cardiomyopathy. *Mol Med Rep*. 2014;10(1).
62. Rolski F, Tkacz K, Węglarczyk K, Kwiatkowski G, Pelczar P, Jaźwa-Kusior A, et al. TNF- $\alpha$  protects from exacerbated myocarditis and cardiac death by suppressing expansion of activated heart-reactive CD4+ T cells. *Cardiovasc Res*. 2024;120(1).
63. Fanti S, Stephenson E, Rocha-Vieira E, Protonotarios A, Kanoni S, Shahaj E, et al. Circulating c-Met-Expressing Memory T Cells Define Cardiac Autoimmunity. *Circulation*. 2022;146(25).
64. Sikking MA, Harding D, Hekens MTHM, Stroeke SLVM, Venner MFGHM, Nihant B, et al. Cytotoxic T-Cells Drive Outcome in Inflammatory Dilated Cardiomyopathy. *Circ Res*. 2024;1193–5.
65. Kohlgruber AC, Dezfulian MH, Sie BM, Wang CI, Kula T, Laserson U, et al. High-throughput discovery of MHC class I- and II-restricted T cell epitopes using synthetic cellular circuits. *Nature Biotechnology*. 2024.
66. Cunningham MW. T cell mimicry in inflammatory heart disease. *Mol Immunol*. 2004;40(14–15).
67. Noutsias M, Rohde M, Gldner K, Block A, Blunert K, Hemaïdan L, et al. Expression of functional T-cell markers and T-cell receptor V $\beta$  repertoire in endomyocardial biopsies from patients presenting with acute myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2011;13(6).
68. Bruestle K, Hackner K, Kreye G, Heidecker B. Autoimmunity in Acute Myocarditis: How Immunopathogenesis Steers New Directions for Diagnosis and Treatment. Vol. 22, *Current Cardiology Reports*. 2020.
69. Şelli ME, Thomas AC, Wraith DC, Newby AC. A humanized HLA-DR4 mouse model for autoimmune myocarditis. *J Mol Cell Cardiol*. 2017;107.
70. Elliott JF, Liu J, Yuan ZN, Bautista-Lopez N, Wallbank SL, Suzuki K, et al. Autoimmune cardiomyopathy and heart block develop spontaneously in HLA-DQ8 transgenic IA $\beta$  knockout NOD mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(23).
71. Dugoujon JM, Cambon-Thomsen A. Immunoglobulin allotypes (GM and KM) and their interactions with HLA antigens in autoimmune diseases: A review. *Autoimmunity*. 1995;22(4).
72. Carlquist JF, Menlove RL, Murray MB, O'Connell JB, Anderson JL. HLA class II (DR and DQ) antigen associations in idiopathic dilated cardiomyopathy: Validation study and meta-analysis of published HLA association studies. *Circulation*. 1991;83(2).

73. Negishi H, Osawa T, Ogami K, Ouyang X, Sakaguchi S, Koshihara R, et al. A critical link between Toll-like receptor 3 and type II interferon signaling pathways in antiviral innate immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(51).
74. Belkaya S, Kontorovich AR, Byun M, Mulero-Navarro S, Bajolle F, Cobat A, et al. Autosomal Recessive Cardiomyopathy Presenting as Acute Myocarditis. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69(13):1653–65.
75. Lopez-Ayala JM, Pastor-Quirante F, Gonzalez-Carrillo J, Lopez-Cuenca D, Sanchez-Munoz JJ, Oliva-Sandoval MJ, et al. Genetics of myocarditis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *Heart Rhythm*. 2015;12(4).
76. Wang W, Murray B, Tichnell C, Giotra NA, Zimmerman SL, Gasperetti A, et al. Clinical characteristics and risk stratification of desmoplakin cardiomyopathy. *Europace*. 2022;24(2).
77. Calore M, Lorenzon A, De Bortoli M, Poloni G, Rampazzo A. Arrhythmogenic cardiomyopathy: a disease of intercalated discs. Vol. 360, *Cell and Tissue Research*. 2015.
78. Smith ED, Lakdawala NK, Papoutsidakis N, Aubert G, Mazzanti A, McCanta AC, et al. Desmoplakin Cardiomyopathy, a Fibrotic and Inflammatory Form of Cardiomyopathy Distinct from Typical Dilated or Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *Circulation*. 2020;141(23).
79. Ammirati E, Raimondi F, Piriou N, Sardo Infriri L, Mohiddin SA, Mazzanti A, et al. Acute Myocarditis Associated With Desmosomal Gene Variants. *JACC Heart Fail*. 2022;10(10):714–27.
80. Bariani R, Rigato I, Cipriani A, Bueno Marinas M, Celeghin R, Basso C, et al. Myocarditis-like Episodes in Patients with Arrhythmogenic Cardiomyopathy: A Systematic Review on the So-Called Hot-Phase of the Disease. Vol. 12, *Biomolecules*. 2022.
81. Campuzano O, Alcalde M, Iglesias A, Barahona-Dussault C, Sarquella-Brugada G, Benito B, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: Severe structural alterations are associated with inflammation. *J Clin Pathol*. 2012;65(12).
82. Asatryan B, Asimaki A, Landstrom AP, Khanji MY, Odening KE, Cooper LT, et al. Inflammation and Immune Response in Arrhythmogenic Cardiomyopathy: State-of-the-Art Review. Vol. 144, *Circulation*. 2021.
83. Mavroidis M, Davos CH, Psarras S, Varela A, C. Athanasiadis N, Katsimpoulas M, et al. Complement system modulation as a target for treatment of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol*. 2015;110(3).
84. Chen L, Yi M, Song J, Hu S. COMPLEMENT SYSTEM IS HIGHLY ACTIVATED AND POTENTIALLY ACTS AS A BIOMARKER FOR PATIENTS WITH ARVC. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(11).
85. Kontorovich AR, Patel N, Moscati A, Richter F, Peter I, Purevjav E, et al. Myopathic Cardiac Genotypes Increase Risk for Myocarditis. *JACC Basic to Transl Sci*. 2021;6(7):584–92.
86. Hawthorne RN, Blazeski A, Lowenthal J, Kannan S, Teuben R, Disilvestre D, et al. Altered electrical, biomolecular, and immunologic phenotypes in a novel patient-derived stem cell model of Desmoglein-2 mutant ARVC. *J Clin Med*. 2021;10(14).
87. Lewinter MM, Granzier H. Cardiac titin: A multifunctional giant. Vol. 121, *Circulation*. 2010.
88. Savvatis K, Müller I, Fröhlich M, Pappritz K, Zietsch C, Hamdani N, et al. Interleukin-6 receptor inhibition modulates the immune reaction and restores titin phosphorylation in experimental myocarditis. *Basic Res Cardiol*. 2014;109(6).
89. Ouisse LH, Remy S, Lafoux A, Larcher T, Tesson L, Chenouard V, et al. Immunophenotype of a Rat Model of Duchenne's Disease and Demonstration of Improved Muscle Strength After Anti-CD45RC Antibody Treatment. *Front Immunol*. 2019;10.
90. Szabó PL, Ebner J, Koenig X, Hamza O, Watzinger S, Trojanek S, et al. Cardiovascular phenotype of the DMDmdx rat - A suitable animal model for Duchenne muscular dystrophy. *DMM Dis Model Mech*. 2021;14(2).
91. Gerbino A, Forleo C, Milano S, Piccapane F, Procino G, Pepe M, et al. Pro-inflammatory cytokines as emerging molecular determinants in cardiomyopathies. *J Cell Mol Med*. 2021;25(23):10902–15.

92. Brayson D, Frustaci A, Verardo R, Chimenti C, Russo MA, Hayward R, et al. Prelamin A mediates myocardial inflammation in dilated and HIV-Associated cardiomyopathies. *JCI Insight*. 2019;4(22).
93. Ikegami K, Stutzman A, Ikegami S, Almakki O, Liu S, Burnicka-turek O, et al. Abstract MP230: Nuclear Rupture In A Mouse Model Of Lmna -related Cardiomyopathy Causes Cytoplasmic Exposure Of The Proinflammatory Signaling Protein Hmgb1 . *Circ Res*. 2021;129(Suppl\_1).
94. Choi JC, Muchir A, Wu W, Iwata S, Homma S, Morrow JP, et al. Temsirolimus activates autophagy and ameliorates cardiomyopathy caused by lamin A/C gene mutation. Vol. 4, *Science Translational Medicine*. 2012.
95. Ramos FJ, Chen SC, Garelick MG, Dai DF, Liao CY, Schreiber KH, et al. Rapamycin reverses elevated mTORC1 signaling in lamin A/C-deficient mice, rescues cardiac and skeletal muscle function, and extends survival. *Sci Transl Med*. 2012;4(144).
96. Lynch TL, Ismahil MA, Jegga AG, Zilliox MJ, Troidl C, Prabhu SD, et al. Cardiac inflammation in genetic dilated cardiomyopathy caused by MYBPC3 mutation. *J Mol Cell Cardiol*. 2017;102.
97. Garcia-Gras E, Lombardi R, Giocondo MJ, Willerson JT, Schneider MD, Khoury DS, et al. Suppression of canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by nuclear plakoglobin recapitulates phenotype of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 2006;116(7).
98. Chelko SP, Asimaki A, Lowenthal J, Bueno-Beti C, Bedja D, Scalco A, et al. Therapeutic Modulation of the Immune Response in Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *Circulation*. 2019;140(18).
99. Bowles NE, Ni J, Marcus F, Towbin JA. The detection of cardiotropic viruses in the myocardium of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(5).
100. Kyratsous CA, Silverstein SJ. BAG3, a Host Cochaperone, Facilitates Varicella-Zoster Virus Replication. *J Virol*. 2007;81(14).
101. Kyratsous CA, Silverstein SJ. The co-chaperone BAG3 regulates Herpes Simplex Virus replication. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(52).
102. Wang HQ, Meng X, Liu BQ, Li C, Gao YY, Niu XF, et al. Involvement of JNK and NF- $\kappa$ B pathways in lipopolysaccharide (LPS)-induced BAG3 expression in human monocytic cells. *Exp Cell Res*. 2012;318(1).
103. Lota AS, Hazebroek MR, Theotokis P, Wassall R, Salmi S, Halliday BP, et al. Genetic Architecture of Acute Myocarditis and the Overlap with Inherited Cardiomyopathy. *Circulation*. 2022;146(15).
104. Artico J, Merlo M, Delcaro G, Cannatà A, Gentile P, De Angelis G, et al. Lymphocytic Myocarditis: A Genetically Predisposed Disease? *J Am Coll Cardiol*. 2020;75(24):3098–100.
105. Ader F, Surget E, Charron P, Redheuil A, Zouaghi A, Maltret A, et al. Inherited Cardiomyopathies Revealed by Clinically Suspected Myocarditis: Highlights From Genetic Testing. *Circ Genomic Precis Med*. 2020;13(4):E002744.
106. Tiron C, Campuzano O, Fernández-Falgueras A, Alcalde M, Loma-Orsorio P, Zamora E, et al. Prevalence of Pathogenic Variants in Cardiomyopathy-Associated Genes in Myocarditis. *Circ Genomic Precis Med*. 2022;15(3):E003408.
107. Seidel F, Holtgrewe M, Al-Wakeel-Marquard N, Opgen-Rhein B, Dartsch J, Herbst C, et al. Pathogenic Variants Associated With Dilated Cardiomyopathy Predict Outcome in Pediatric Myocarditis. *Circ Genomic Precis Med*. 2021;14(4):E003250.
108. Seidel F, Laser KT, Klingel K, Dartsch J, Theisen S, Pickardt T, et al. Pathogenic Variants in Cardiomyopathy Disorder Genes Underlie Pediatric Myocarditis—Further Impact of Heterozygous Immune Disorder Gene Variants? *J Cardiovasc Dev Dis*. 2022;9(7).
109. Boulet J, Lakdawala NK, Christiansen MN, Schou M, Køber L, Gustafsson F, et al. Cardiomyopathy in First-Degree Relatives of Patients Presenting With Acute Myocarditis: Prevalence and Prognostic Significance. *Circ Hear Fail*. 2024;17(6):e011204.
110. Piriou N, Marteau L, Kyndt F, Serfaty JM, Toquet C, Le Gloan L, et al. Familial screening in case of acute myocarditis reveals inherited arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathies. *ESC Hear Fail*. 2020;7(4):1520–33.

111. Bueno Marinas M, De Gaspari M, Baritussio A, Cason M, Celeghin R, Pinci S, et al. Genetic testing in inflammatory cardiomyopathy/myocarditis: a red flag for cardiomyopathy-like histologic findings. *Eur Heart J*. 2023;44(Supplement\_2).
112. Brown EE, Mcmillan KN, Halushka MK, Ravekes WJ, Knight M, Crosson JE, et al. Genetic aetiologies should be considered in paediatric cases of acute heart failure presumed to be myocarditis. *Cardiol Young*. 2019;29(7):917–21.
113. Kontorovich AR, Tang Y, Patel N, Georgievskaya Z, Shadrina M, Williams N, et al. Burden of Cardiomyopathic Genetic Variation in Lethal Pediatric Myocarditis. *Circ Genomic Precis Med*. 2021;14(4):E003426.
114. Papatheodorou E, Pantou M, Gourzi P, Bakalakos A, Tsatsopoulou A, Vlagkouli V, et al. Genetic testing in consecutive cases of acute and clinically suspected myocarditis with noise in the family. *Eur Heart J*. 2022;43(Supplement\_2):2022.
115. Van Der Meulen MH, Herkert JC, Den Boer SL, Du Marchie Sarvaas GJ, Blom NA, Ten Harkel ADJ, et al. Genetic Evaluation of A Nation-Wide Dutch Pediatric DCM Cohort: The Use of Genetic Testing in Risk Stratification. *Circ Genomic Precis Med*. 2022;15(5).
116. Arbelo E, Protonotarios A, Gimeno JR, Arbustini E, Arbelo E, Barriales-Villa R, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of cardiomyopathies: Developed by the task force on the management of cardiomyopathies of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2023;44(37).
117. Monda E, Bakalakos A, Cannie D, O'Mahony C, Syrris P, Kaski JP, et al. Prevalence of Pathogenic Variants in Cardiomyopathy-Associated Genes in Acute Myocarditis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JACC Hear Fail*. 2024;12(6):1101–11.
118. Gulati A, Jabbour A, Ismail TF, Guha K, Khwaja J, Raza S, et al. Association of fibrosis with mortality and sudden cardiac death in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy. *JAMA*. 2013;309(9).
119. Miles C, Finocchiaro G, Papadakis M, Gray B, Westaby J, Ensam B, et al. Sudden Death and Left Ventricular Involvement in Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *Circulation*. 2019;139(15).
120. Akhtar MM, Lorenzini M, Cicerchia M, Ochoa JP, Hey TM, Sabater Molina M, et al. Clinical Phenotypes and Prognosis of Dilated Cardiomyopathy Caused by Truncating Variants in the TTN Gene. *Circ Hear Fail*. 2020;13(10).
121. Lazarte J, Jurgens SJ, Choi SH, Khurshid S, Morrill VN, Weng LC, et al. LMNA Variants and Risk of Adult-Onset Cardiac Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2022;80(1).

## Κατάλογος Πινάκων

|                                                                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Πίνακας 1.</b> Διαγνωστικά κριτήρια για κλινική υποψία μυοκαρδίτιδας (5).....                                                   | <b>1</b>  |
| <b>Πίνακας 2.</b> Κυτταροκίνες και χημειοκίνες που σχετίζονται με την παθογένεση της μυοκαρδίτιδας. (42).....                      | <b>10</b> |
| <b>Πίνακας 3.</b> Κυριότερες μελέτες συσχέτισης οξείας μυοκαρδίτιδας και γονιδίων σχετιζόμενων με γενετικές μυοκαρδιοπάθειες. .... | <b>24</b> |
| <b>Πίνακας 4.</b> Βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης. ....                                                              | <b>28</b> |
| <b>Πίνακας 5.</b> Σύγκριση ασθενών με θετικό γονότυπο έναντι αυτών με αρνητικό γονότυπο.....                                       | <b>29</b> |
| <b>Πίνακας 6.</b> Κατανομή γονιδίων στους ασθενείς με θετικό γονότυπο.....                                                         | <b>31</b> |
| <b>Πίνακας 7.</b> Σύγκριση χαρακτηριστικών ασθενών με ανίχνευση γονιδίου κακής πρόγνωσης έναντι ασθενών με αρνητικό γονότυπο.....  | <b>32</b> |

## Κατάλογος Εικόνων

|                                                                                                                                                                                                        |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Εικόνα 1.</b> Το φάσμα της μυοκαρδίτιδας σε 4 στάδια σύμφωνα με Αμερικάνικο Κολλέγιο Καρδιολογίας.....                                                                                              | <b>4</b>  |
| <b>Εικόνα 2.</b> Αλγόριθμος για τη διενέργεια γενετικού ελέγχου σε ασθενείς με μυοκαρδίτιδα στην κλινική πράξη .....                                                                                   | <b>20</b> |
| <b>Εικόνα 3.</b> Τα γονίδια που ανευρέθηκαν με φθίνουσα σειρά συχνότητας. ....                                                                                                                         | <b>31</b> |
| <b>Εικόνα 4.</b> Κατανομή των γενετικών παραλλαγών σε γονίδια σχετιζόμενα με μυοκαρδιοπάθειες σε ασθενείς με οξεία μυοκαρδίτιδα- δεδομένα από την παρούσα καταγραφή και τις μελέτες του Πίνακα 3. .... | <b>36</b> |

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ - ΚΑΡΔΙΟ-ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ - ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ**  
**ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ»**

***<https://www.med.uth.gr/msc.cardio>***