



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MESSINA

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale  
Dottorato di ricerca in Scienze Biomediche Cliniche e Sperimentali  
XXXIV Ciclo

Settore Scientifico Disciplinare: Malattie dell'Apparato Cardiovascolare

---

*Coordinatore: Ch.mo prof. Francesco Squadrito*

## **Valvola aortica bicuspidale e aortopatie correlate: nuovi marcatori prognostici per l'identificazione dei pazienti ad elevato rischio di complicanze**

Tesi di Dottorato di:  
Dott. Luca **Longobardo**

Relatore:  
Ch.mo Prof. Scipione **Careri**

Co-relatore:  
Ch.ma Prof.ssa Concetta **Zito**

---

Anno Accademico 2020-2021

Triennio 2018-2021

## SOMMARIO

La bicuspidia aortica: concetti generali.....	pag 3
Aortopatia in pazienti con valvola aortica bicuspidie: patogenesi e principali caratteristiche....	pag 8
Imaging nei pazienti con valvola aortica bicuspidie: ruolo dell'ecocardiogramma color-Doppler e metodiche di secondo livello.....	pag 12
Obiettivo dello studio.....	pag 16
Metodi.....	pag 17
Risultati.....	pag 21
Discussione.....	pag 30
Limiti.....	pag 34
Conclusioni.....	pag 35
Bibliografia.....	pag 36

## La bicuspidia aortica: concetti generali

Si definisce valvola aortica bicuspidale (BAV) una condizione clinica caratterizzata dalla presenza di una valvola aortica costituita da due sole cuspidi, in luogo delle tre che normalmente compongono la valvola fisiologica, a causa della fusione o della mancata separazione di due cuspidi durante la vita embrionale. La bicuspidia aortica è la più comune tra le malformazioni congenite della popolazione adulta e interessa circa 1-2% della popolazione generale<sup>1</sup>, con una particolare preponderanza nel genere maschile<sup>2</sup>. Pur trattandosi di una patologia tendenzialmente benigna, con una sopravvivenza a lungo termine simile a quella dei soggetti sani,<sup>3</sup> la bicuspidia aortica può essere complicata da alterazioni funzionali della valvola, quali stenosi o insufficienza, e da alterazioni a carico dell'aorta toracica, prevalentemente nel tratto tra la radice e l'arco aortico. La dilatazione aneurismatica dell'aorta toracica è la complicanza più frequente e coinvolge circa il 40% di questi pazienti<sup>4</sup>, mentre la dissezione aortica si verifica in una percentuale molto più bassa di casi, pur essendo tuttavia più frequente rispetto alla popolazione generale.<sup>5</sup>

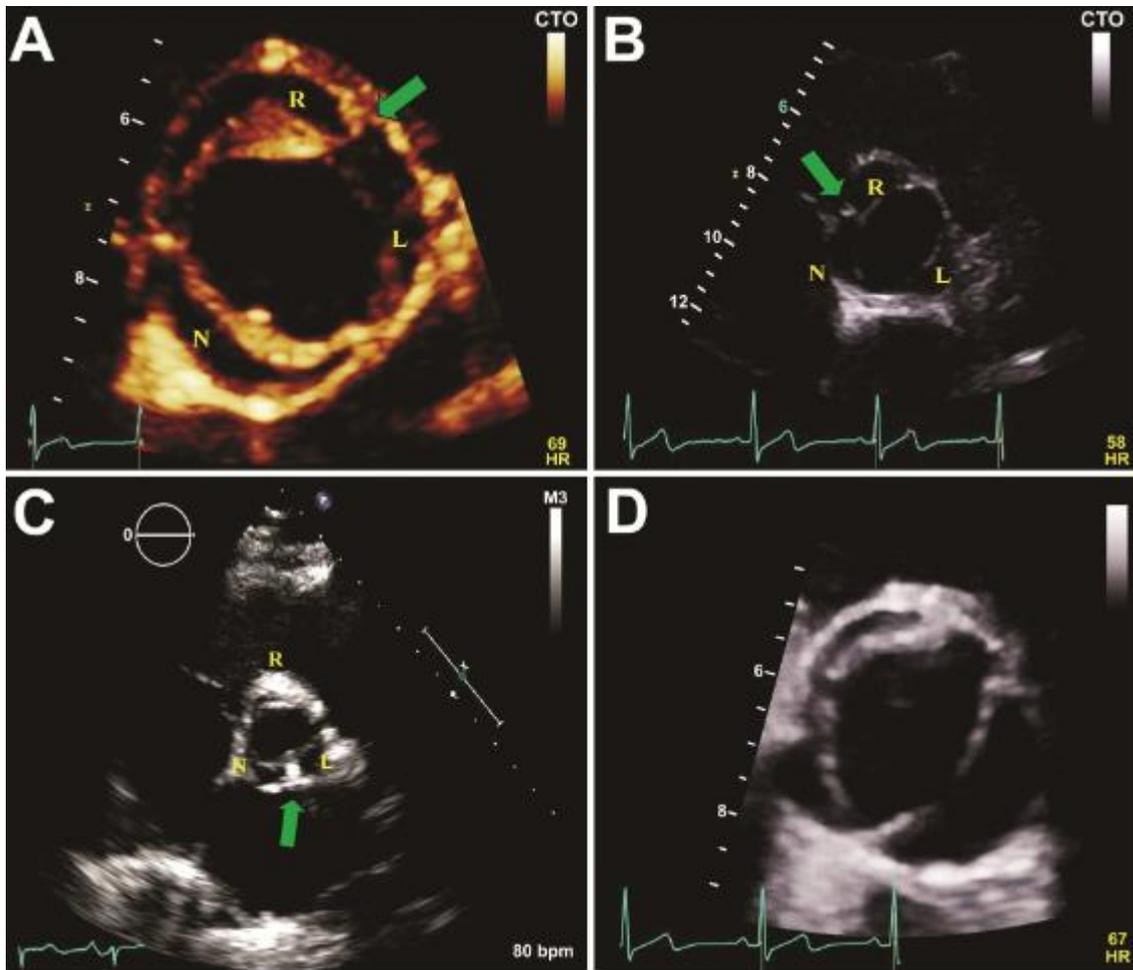
La bicuspidia aortica è una patologia significativamente eterogenea. Infatti la fusione delle cuspidi aortiche può riguardare, in varie combinazioni, tutte e tre le cuspidi e può essere presente o meno un rafe, ovvero una struttura lineare simile a una cresta, esito della fusione delle due cuspidi. A causa della variabilità fenotipica della valvola, la precedente visione secondo la quale la bicuspidia costituisse un'unica entità nosologica è stata presto sostituita dall'evidenza di una condizione caratterizzata da un ampio spettro di manifestazioni, che non riguardano esclusivamente le cuspidi aortiche ma la valvola nella sua interezza, costituita da cuspidi, seni, commissure e sbocchi delle coronarie.<sup>6</sup> In questo contesto, in letteratura sono state proposte numerose classificazioni morfologiche della bicuspidia, alcune molto complesse, volte al tentativo di schematizzare questa complicata entità nosologica in maniera unanime (Tabella 1). Tra le più utilizzate, la più semplice è la classificazione di Sabet<sup>7</sup> che distingue tre principali morfologie in base alle cuspidi coinvolte nella fusione (“Tipo R-L” con fusione delle cuspidi destra e sinistra, “Tipo R-N” con fusione delle

cuspidi destra e non coronarica e “Tipo L-N” con fusione delle cuspidi sinistra e non coronarica) e alla presenza del rafe (Figura 1), mentre più complessa è la classificazione di Sievert

Authors	Classification system	Classification determinants	Main findings
Roberts et al.	Right-left Antero-posterior	Raphe Cusp position	Aortic stenosis was the most common valve dysfunction. Aortic regurgitation caused death or surgical intervention at a young age. Coronary arteries usually arise in front of the cusp with the raphe.
Brandenburg et al.	Type A: posterior and anterior commissures and raphe located at 4-5, 9-10, and 1-2 o'clock, respectively Type B: posterior and anterior commissures and raphe located at 6, 1-2, and 9-10 o'clock, respectively Type C: commissures at 3 and 9 o'clock, with no raphe	Commissures Raphe position, (on a clock face)	Very high sensitivity, specificity, and diagnostic accuracy of two-dimensional echocardiography in bicuspid aortic valve (BAV)
Sabet et al.	Right-left Right-noncoronary Left-noncoronary With or without raphe	Raphe Raphe position	Aortic stenosis was the most common valve dysfunction. Raphe most common between right and left cusps. Absence of raphe occurred in 36% of cases.
Sievers et al.	Type 0: no raphe Type 1: one raphe Type 2: two raphes First subcategory: antero-posterior (AP), lateral (LAT), left-right (L-R), right-noncoronary (R-N), noncoronary-left (N-L) Second subcategory: predominant insufficiency (I), predominant stenosis (S), balanced insufficiency and stenosis (B) and normal function (No)	Main category: number of raphes First subcategory: spatial arrangement of the free edge of the cusps Second subcategory: functional status of the valve	The most common BAV phenotype was Type 1, L-R, S. “Pure” BAV with no raphe (type 0) was quite rare. The least common phenotype was Type 2.
Kang et al.	Type 1: AP BAV with raphe Type 2: AP BAV without raphe Type 3: R-N BAV with raphe Type 4: L-N BAV with raphe Type 5: R-N BAV or L-N BAV without raphe	Cusp and raphe presence and orientation	Aortic stenosis predominated in patients with R-L BAV, aortic regurgitation in AP BAV. A normal aorta was the most common phenotype in AP BAV. Type 3 aortopathy was the most common phenotype in R-L BAV patients.

**Tabella 1.** Classificazione morfologica della valvola aortica bicuspidale. Da Longobardo et al. The American Journal of Medicine (2016).<sup>6</sup>

che distingue diverse sottoclassi in base al numero dei rafe, alla posizione spaziale di rafe e cuspidi e allo stato funzionale della valvola.<sup>8</sup>



**Figura 1.** Esempi di valvole aortiche bicuspidi valutate tramite ecocardiogramma transtoracico dalla finestra parasternale asse corto. A) Fusione delle cuspidi destra e sinistra (Tipo R-L); B) Fusione delle cuspidi destra e non coronarica (Tipo R-N); C) Fusione delle cuspidi sinistra e non coronarica (Tipo L-N); D) Fusione delle cuspidi destra e non coronarica in assenza di rafe. Le frecce verdi indicano la posizione del rafe. Da Longobardo et al. *The American Journal of Medicine* (2016).<sup>6</sup>

Da un punto di vista patogenetico, è ormai chiaro il ruolo giocato dal background genetico del paziente. Infatti, tramite lo studio di numerose famiglie affette da BAV e l'utilizzo di modelli matematici è stato ipotizzata una trasmissione autosomica dominante con una penetranza e una espressione fenotipica della patologia molto variabile.<sup>6</sup>

I principali pathways genetici che sembrano coinvolti sono Notch e Nos3, entrambi attivi nella regolazione del complesso processo di espansione e differenziazione delle cellule endocardiche che

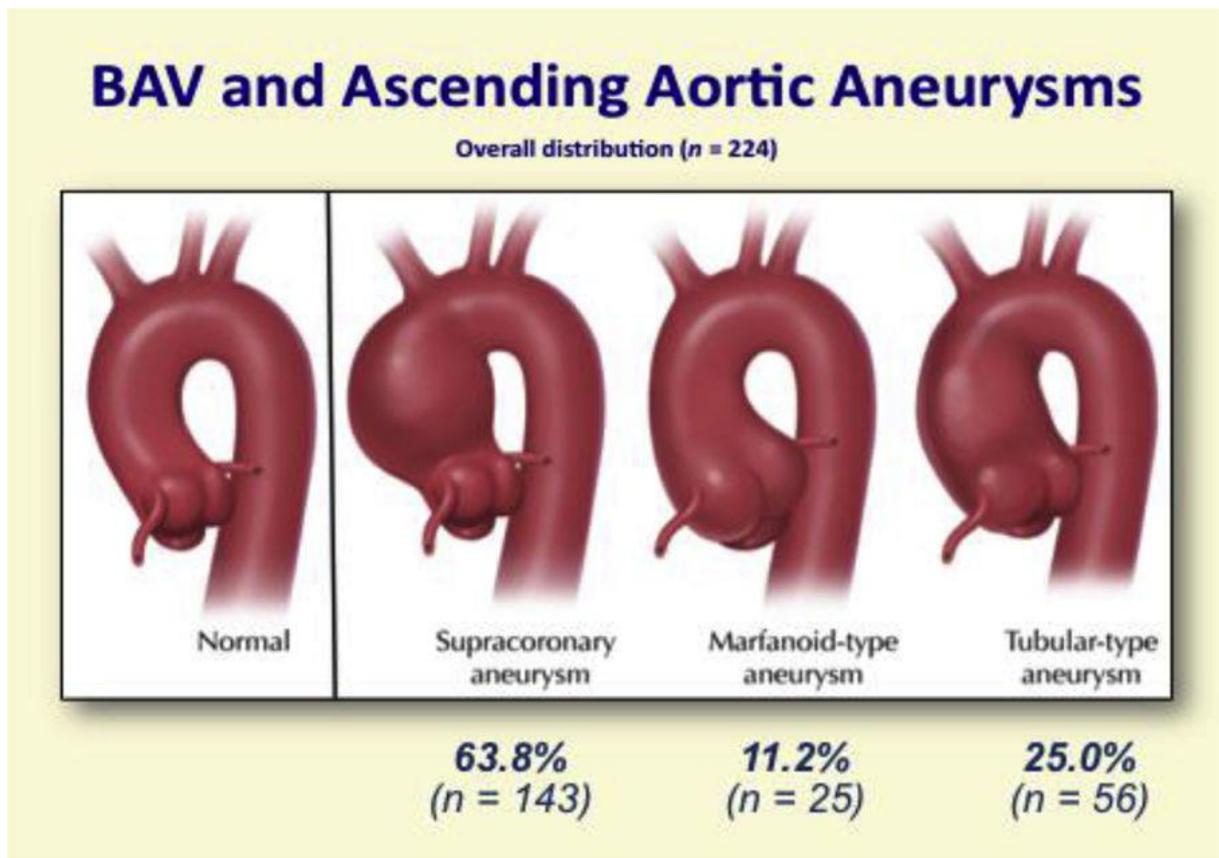
formano i cuscinetti endocardici del canale atrioventricolare e del tratto di efflusso del ventricolo sinistro.<sup>6</sup> Inoltre è stato osservato che la bicuspidia aortica si associa frequentemente ad altre malformazioni quali la coartazione aortica o la pervietà del dotto arterioso di Botallo ed è stata descritta nell'ambito di sindromi genetiche più complesse tra cui la Sindrome di Turner e la Sindrome di William.<sup>9</sup> Alcuni studi hanno poi evidenziato che mutazioni diverse coinvolgenti diversi pathways cellulari determinano fenotipi differenti di BAV; infatti, Fernández et al.<sup>10</sup> hanno dimostrato in topi con mutazioni del pathway di Nos3 che le mutazioni presenti nelle BAV tipo R-L erano differenti da quelle presenti nelle BAV tipo R-N, confermando la eterogeneità non solo fenotipica ma anche patogenetica della bicuspidia aortica.

Da un punto di vista clinico, la presenza della bicuspidia passa nella gran parte dei casi inosservata per parecchi anni, finché si determina una valvulopatia più o meno significativa che evolve fino allo scompenso cardiaco, causando il corteo di segni e sintomi tipico di questa condizione, tra cui la dispnea, la sincope, il dolore toracico e gli edemi declivi. Più raramente, in caso di complicanze acute a carico dell'aorta toracica come la dissezione aortica, la sintomatologia insorge improvvisamente ed è caratterizzata da un dolore retrosternale irradiato al dorso, anisofimia dei polsi periferici e ipotensione più o meno marcata. La diagnosi, come verrà discusso più approfonditamente in seguito, è basata sull'imaging e prevede come esame di primo livello l'ecocardiogramma transtoracico, eventualmente seguito dall'ecocardiogramma transesofageo, che permettono di evidenziare la morfologia bicuspidia della valvola aortica, le eventuali valvulopatie e la loro entità e le ripercussioni a carico del circolo sistemico. Inoltre, l'ecocardiogramma consente con un'ottima accuratezza di misurare i diametri della radice aortica, dell'aorta ascendente e dell'arco aortico e, con una discreta accuratezza, di porre diagnosi di dissezione aortica, diagnosi che deve poi essere confermata tramite TC torace con mezzo di contrasto, considerata la metodica gold standard.

Il trattamento della bicuspidia aortica prevede nelle fasi iniziali un follow-up ecocardiografico annuale per una attenta sorveglianza dello sviluppo di valvulopatie e dilatazione dell'aorta toracica. Non sono previsti trattamenti farmacologici in caso di buon funzionamento della valvola, mentre è consigliato un rigido controllo dell'ipertensione arteriosa, uno dei principali fattori che contribuiscono alla dilatazione dell'aorta ascendente, tramite ACE-inibitori e beta-bloccanti. In presenza di valvulopatie significative invece, o di marcata dilatazione dell'aorta, le attuali linee guida<sup>11</sup> prevedono la sostituzione chirurgica della valvola aortica bicuspidica in presenza degli stessi requisiti richiesti per il trattamento chirurgico della valvola aortica tricuspide (valvulopatia severa sintomatica, riduzione della frazione di eiezione o dilatazione del ventricolo sinistro). Inoltre, in presenza di aneurisma dell'aorta ascendente, è indicata la sostituzione chirurgica in profilassi in pazienti con un diametro di almeno un segmento aortico  $\geq 55$  mm o  $\geq 50$  mm se coesistono la coartazione aortica o uno o più fattori di rischio quali familiarità per dissezione aortica, severa insufficienza aortica o mitralica, desiderio di una gravidanza, ipertensione arteriosa scarsamente controllata e un aumento  $> 3$  mm/anno dei diametri aortici.<sup>11</sup>

## Aortopatia in pazienti con valvola aortica bicuspidi: patogenesi e principali caratteristiche

Come precedentemente accennato, le complicanze a carico dell'aorta toracica sono piuttosto frequenti nei pazienti con valvola aortica bicuspidi, arrivando ad interessare, secondo alcuni autori, il 40% di questi soggetti.<sup>4</sup> La sede della dilatazione aortica è varia, e può coinvolgere la sola radice aortica a livello dei seni di Valsalva, la sola aorta ascendente, o entrambe queste porzioni con interessamento anche della giunzione sino-tubulare (Figura 2). Sebbene non vi siano dati certi, sembra evidente che circa il 60-70% di aneurismi aortici in pazienti con BAV interessino l'aorta ascendente, mentre le forme limitate ai soli seni di Valsalva presentano un comportamento più maligno con una rapida progressione e maggiore rischio di rottura.<sup>12</sup>

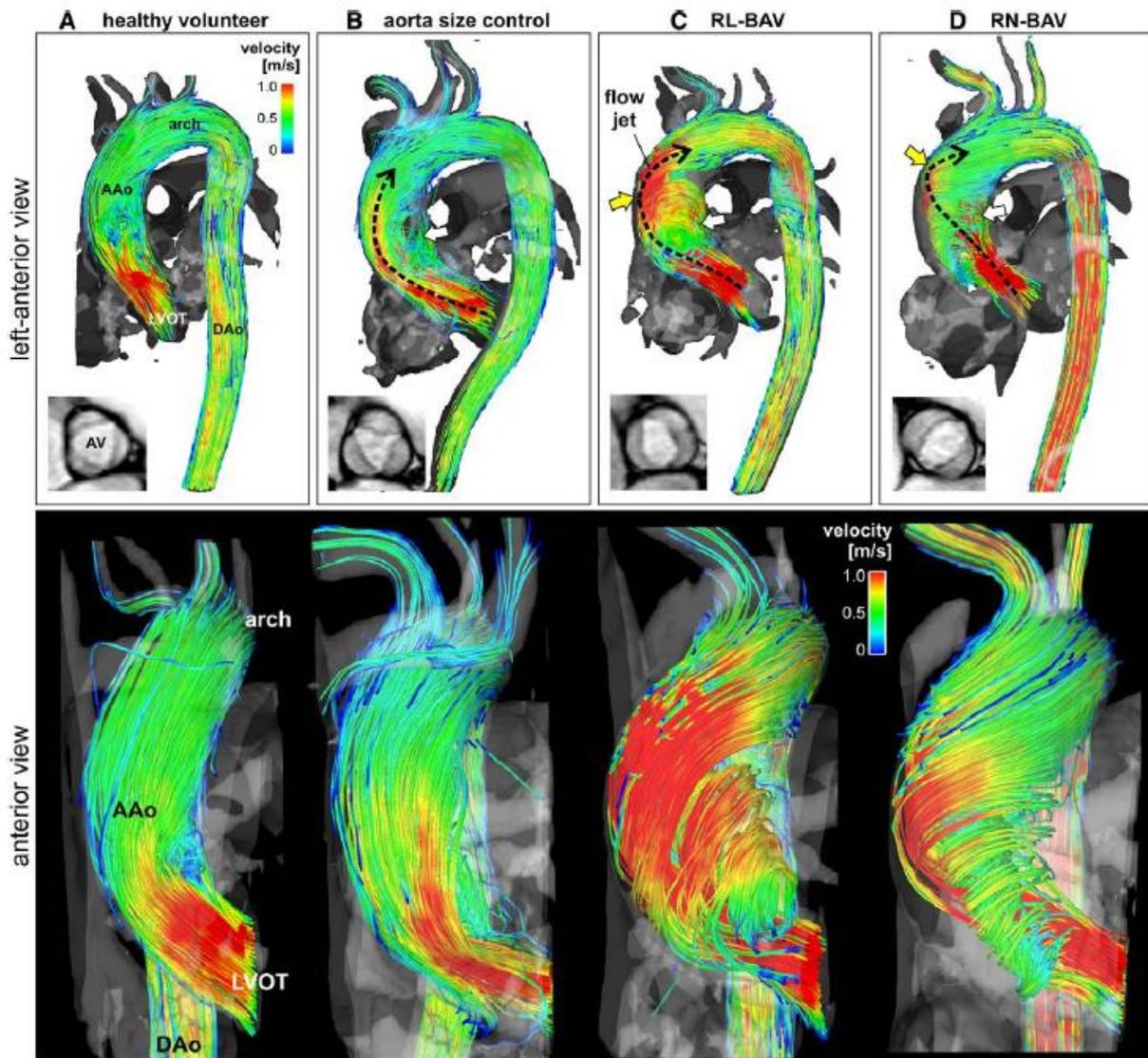


**Figura 2.** Distribuzione anatomica degli aneurismi aortici in pazienti con valvola aortica bicuspidi. Da Borger et al. J Thorac Cardiovasc Surg. 2018<sup>9</sup>

A questo proposito, Mahadevia et al.<sup>13</sup> hanno ipotizzato una correlazione tra il fenotipo morfologico di valvola bicuspid e la sede dell'aneurisma aortico e hanno dimostrato che la maggior parte dei pazienti con BAV tipo R-L presentavano una dilatazione dell'aorta ascendente, mentre i pazienti con BAV tipo R-N mostravano una dilatazione isolata dei seni di Valsalva o un interessamento uniforme di tutta l'aorta toracica. Gli autori spiegavano questa correlazione ipotizzando che la dilatazione dei diversi segmenti aortici fosse indotta da un aumentato stress di parete causato dal flusso sistolico di sangue che non presenta più caratteristiche uniformi come nei pazienti con valvola tricuspide, ma che, a causa della diversa morfologia valvolare, è eccentrico e turbolento, diretto verso la parete posteriore nei pazienti con BAV R-N e verso la parete anteriore nei pazienti con BAV R-L, determinando quindi sedi differenti di dilatazione. Questa teoria, definita “teoria emodinamica” o “teoria dei flussi”, ha trovato molto credito in letteratura come fondamento patogenetico della dilatazione aneurismatica dell'aorta nei pazienti con valvola aortica bicuspid. Infatti la presenza di flussi eccentrici con aumentate velocità, diversamente orientati in base alla morfologia valvolare, in grado di determinare un significativo stress di parete su precise regioni dell'aorta ascendente è stata dimostrata chiaramente tramite l'utilizzo dei più recenti software della risonanza magnetica cardiaca, così detti “4D flow MRI”, in grado di evidenziare in vivo in tempo reale i flussi di sangue all'interno dell'aorta ascendente, quantificandone direzione e velocità, e di stimare lo stress di parete dei differenti segmenti aortici, fornendo così dati prima impossibili da ottenere sul quadro emodinamico dei pazienti con valvola aortica bicuspid<sup>13-16</sup> (Figura 3).

Tuttavia, la sola presenza di flussi anomali all'interno dell'aorta ascendente non sembra essere sufficiente a spiegare la patogenesi degli aneurismi aortici. Per esempio, è stato dimostrato che la progressione della dilatazione aortica è riscontrabile anche in pazienti con BAV sottoposti a sostituzione della valvola aortica con protesi meccanica o biologica,<sup>17</sup> evenienza non congrua con la sola patogenesi emodinamica. Una possibile risposta a queste obiezioni deriva da alcuni studi che

hanno preso in esame la composizione ultrastrutturale delle pareti dell'aorta in pazienti con BAV. È stato infatti evidenziato che in questi soggetti è possibile osservare un corteo di alterazioni



**Figura 3.** Pannello superiore: Visualizzazione tramite risonanza magnetica 3D del flusso sistolico di sangue in pazienti con BAV (C e D) paragonato a un soggetto controllo valvola aortica tricuspide e aneurisma aortico (B) e un soggetto sano (A). Le frecce nere tratteggiate indicano i pattern di flusso ematico nell'aorta ascendente (AAo) chiaramente differenti.

Pannello inferiore: Pattern del flusso in 3D nel tratto di efflusso del ventricolo sinistro (LVOT) e nell'aorta ascendente (AAo) distalmente alla valvola aortica. Sono visibili pattern differenti di flusso sistolico provenienti dalla valvola aortica (il rosso indica velocità di flusso > 1 m/sec) e aree interessate da intenso stress di parete nelle differenti morfologie di BAV (C e D), nel paziente con aneurisma aortico e valvola aortica tricuspide (B) e nel soggetto sano (A). Da Mahadevia et al. *Circulation*. 2014.<sup>13</sup>

microstrutturali della tonaca media della parete aortica che includono la necrosi cistica delle cellule, la frammentazione delle fibre elastiche, la perdita di cellule muscolari lisce e l'incremento delle

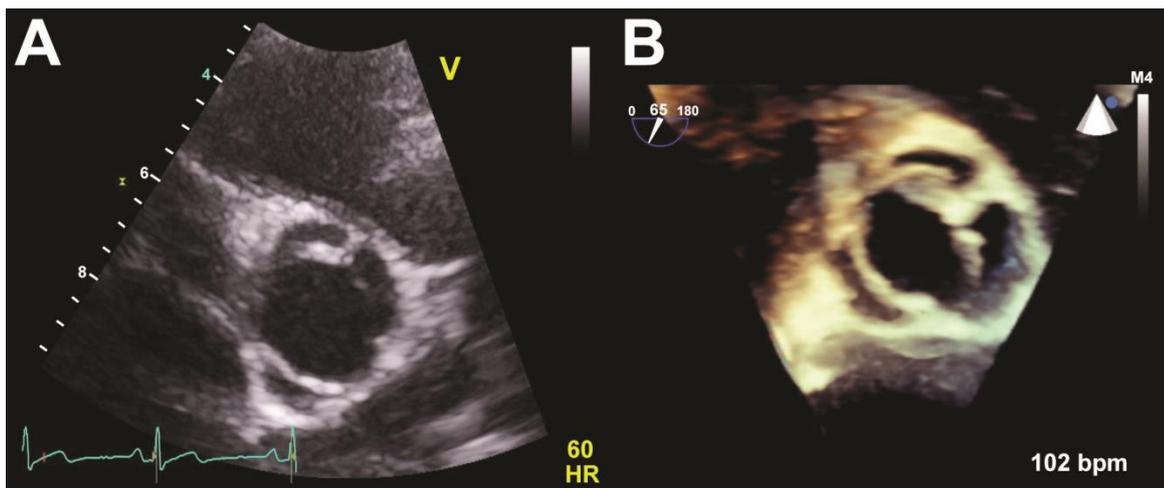
fibre collagene.<sup>18</sup> Queste alterazioni possono essere ricondotte a uno sbilanciamento dell'attività delle proteine della matrice extracellulare, secondario ad una aumentata attività di una famiglia di metalloproteinasi, nota come MMPs, e ad una ridotta efficacia dei loro naturali inibitori, noti come TIMPs.<sup>19-21</sup> L'aumentata attività proteolitica determina una significativa frammentazione delle fibre di elastina, rapidamente sostituite da fibre collagene, con conseguente perdita di elasticità della tonaca media dell'aorta ascendente dei pazienti con BAV.

Alle alterazioni della composizione ultrastrutturale della parete aortica di questi pazienti sembra inoltre concorrere il background genetico. Come per la genesi delle alterazioni strutturali della valvola aortica, è stato dimostrato anche nella dilatazione dell'aorta ascendente un ruolo di alcuni mutazioni genetiche, quali mutazioni missenso o non-sense a carico di Notch1, del gene della fibrillina e del gene codificante il Transforming growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ), quest'ultimo responsabile della sintesi di una citochina fondamentale nella regolazione dell'embriogenesi e della differenziazione delle cellule che compongono la parete aortica.<sup>6</sup>

Tutti questi dati sembrano quindi dimostrare che nei pazienti con BAV si determini una condizione di maggiore debolezza intrinseca della parete dell'aorta ascendente, secondaria a mutazioni genetiche e a cambiamenti della microstruttura della tonaca media, che favorisce la dilatazione del vaso indotta dall'aumentato stress di parete dovuto alle alterazioni emodinamiche del flusso ematico.

## Imaging nei pazienti con valvola aortica bicuspid: ruolo dell'ecocardiogramma color-Doppler e metodiche di secondo livello

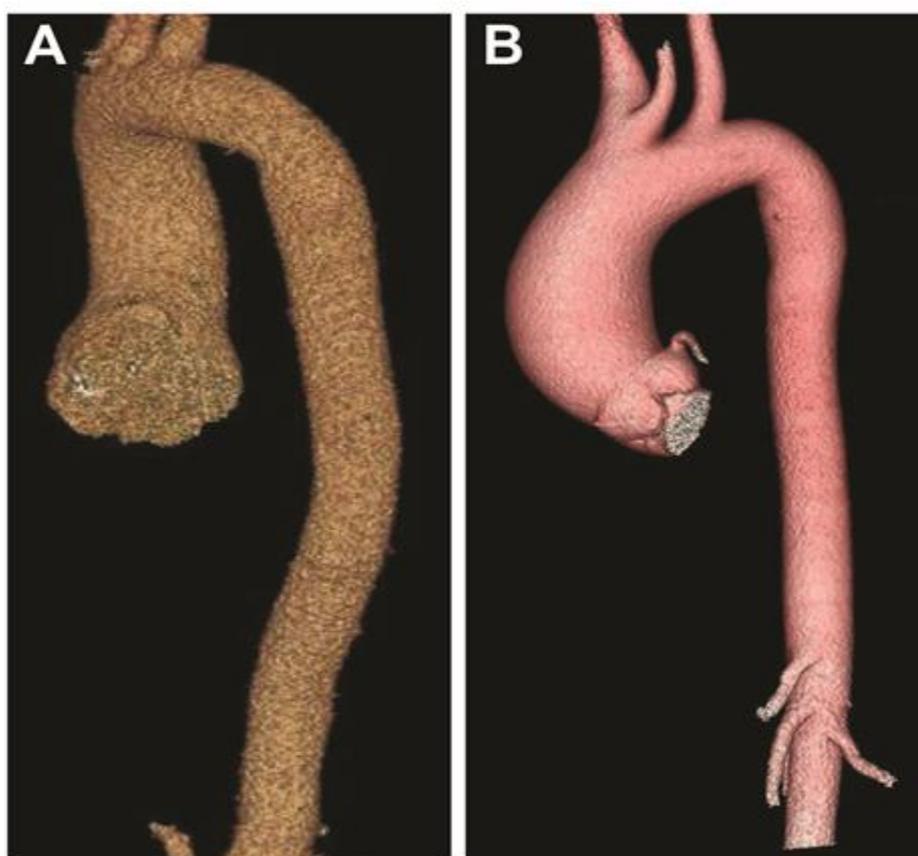
La metodica di scelta di primo livello per la diagnosi di valvola aortica bicuspid è l'ecocardiogramma color-Doppler transtoracico (ETT). Infatti, un ETT di routine consente di studiare in maniera sufficientemente accurata la morfologia della valvola aortica, l'eventuale entità della valvulopatia e i diametri della radice aortica, dell'aorta ascendente e dell'arco aortico. La morfologia della valvola aortica bicuspid viene valutata dall'approccio parasternale nella proiezione asse corto, che permette di evidenziare le cuspidi valvolari, l'eventuale presenza di rafe e, con l'utilizzo del color-Doppler, la presenza di insufficienza o stenosi aortica. (Figura 4)



**Figura 4.** Esempio di valvola aortica bicuspid valutata tramite ecocardiogramma transtoracico 2D (A) ed ecocardiogramma transesofageo 3D (B) Da Longobardo et al. *The American Journal of Medicine* (2016).<sup>6</sup>

In presenza di finestra acustica di scarsa qualità o in caso di morfologia dubbia, può essere utile eseguire un ecocardiogramma transesofageo (ETE), che nella proiezione medio-esofagea asse corto consente di studiare la morfologia valvolare con elevata accuratezza. In questo contesto, un ruolo importante può essere giocato dall'utilizzo della metodica 3D che consente una migliore definizione delle strutture anatomiche fornendo immagini suggestive della valvola (Figura 4), utili anche per stabile il miglior approccio cardiocirurgico tra riparazione o sostituzione valvolare in caso di

necessità di intervento. L'ecocardiogramma transtoracico fornisce anche ottimali informazioni sui diametri aortici. In accordo con le più recenti linee-guida<sup>22</sup> i diametri aortici devono essere misurati in approccio parasternale, nella proiezione asse lungo, in telediastole, con la tecnica “leading edge to leading edge”, cioè dal bordo esterno della parete anteriore al bordo interno della parete posteriore del vaso, sia a livello dei seni di Valsalva che della giunzione sino-tubulare, dell'aorta ascendente e dell'arco aortico. La standardizzazione della tecnica di misurazione è fondamentale per consentire una affidabile comparazione delle misure durante il follow-up ed identificare in maniera affidabile la progressione della dilatazione aortica.

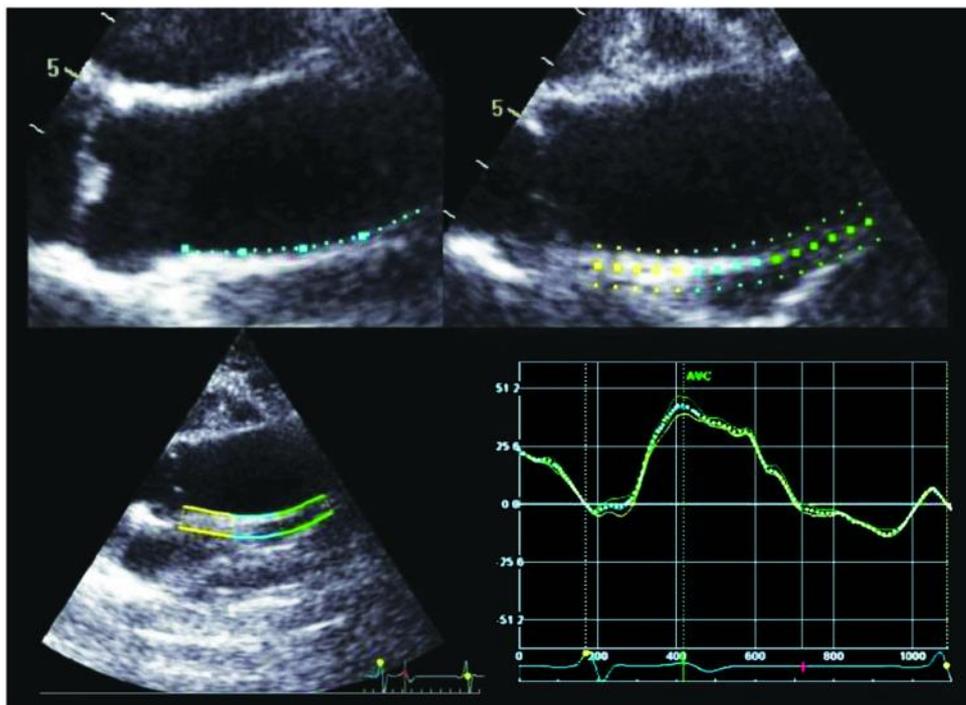


**Figura 5.** Esempi di aneurismi dell'aorta in pazienti con valvola aortica bicuspidale sottoposti a TC torace con mezzo di contrasto e ricostruzione tridimensionale. A) Aneurisma dei seni di Valsalva; B) aneurisma dell'aorta ascendente. Da Longobardo et al. The American Journal of Medicine (2016).<sup>6</sup>

La differenza di metodiche di misurazione tra l'ecocardiogramma e la TC torace, che utilizza prevalentemente la tecnica "inner edge to inner edge", cioè la misurazione tra i bordi interni delle pareti aortiche, è alla base delle discrepanze più volte evidenziate tra i dati rilevati con le due metodiche di imaging. La TC torace con o senza mezzo di contrasto e ricostruzione tridimensionale delle immagini e la risonanza magnetica cardiaca sono invece metodiche di secondo livello da utilizzare in particolari condizioni. La TC torace con mezzo di contrasto è considerata la metodica gold standard per la valutazione dei diametri aortici e per la diagnosi di dissezione aortica e viene impiegata per confermare i dati dell'ecocardiogramma in particolare nel setting pre-operatorio e per ottenere una valutazione tridimensionale della sede dell'aneurisma (Figura 5). In pazienti giovani o che non possono essere sottoposti a esposizione di radiazioni (per esempio donne gravide), la risonanza magnetica cardiaca può essere una valida alternativa per lo studio tridimensionale dei diametri aortici. I software più recenti, noti come "4D flow MRI", consentono inoltre di ottenere dati sull'emodinamica dei flussi ematici sistolici intraortici, fornendo informazioni sulle velocità e sulle direzioni del flusso e quantificando lo stress di parete a cui sono sottoposte le singole porzioni del vaso. Questa metodica tuttavia non viene ancora utilizzata nella pratica clinica di routine e ha in atto uno scopo prevalentemente di ricerca.

Di particolare interesse, nell'ambito delle tecniche di più recente introduzione, è la possibilità di studiare tramite ecocardiogramma transtoracico e transesofageo non soltanto l'anatomia del vaso ma anche le proprietà elastiche che lo caratterizzano. Come precedentemente discusso, nei pazienti con valvola aortica bicuspidale le modifiche ultrastrutturali della tonaca media determinano una progressiva perdita delle fibre di elastina a favore delle fibre collagene, con conseguente riduzione dell'elasticità e aumento della rigidità del vaso. A questo proposito Nisri et al.<sup>23</sup> nei pazienti adulti e Oulego-Eroz et al.<sup>24</sup> nei bambini con BAV hanno dimostrato una riduzione dell'elasticità e un aumento della stiffness dell'aorta ascendente quantificata con metodica M-mode. Questi primi dati ottenuti con parametri convenzionali sono stati successivamente confermati tramite l'utilizzo di una

metodica di recente introduzione, lo strain longitudinale speckle tracking 2D, software originariamente nato per lo studio della contrattilità del ventricolo sinistro e impiegato per la prima volta in letteratura dal nostro gruppo di ricerca nello studio dell'elasticità dell'aorta ascendente nei pazienti con BAV.<sup>25</sup>



**Figura 6.** Strain longitudinale 2D speckle tracking della parete posteriore dell'aorta ascendente di un paziente con BAV. Da Longobardo et al. Eur Heart J Cardiovasc Imaging 2018.<sup>25</sup>

Lo strain longitudinale dell'aorta ascendente ha dimostrato una elevata riproducibilità e accuratezza nell'evidenziare la ridotta elasticità dell'aorta di questi pazienti e, in futuro, potrebbe essere integrato nella valutazione di routine dei soggetti con BAV per evidenziare quelli a più elevato rischio di dilatazione o dissezione aortica.

## Obiettivo dello studio

Il presente studio trae le sue radici da un progetto iniziato nel 2013 dal nostro gruppo di ricerca, volto a studiare in maniera multidisciplinare i pazienti con valvola aortica bicuspidale. È noto infatti come questi pazienti siano frequentemente soggetti a dilatazione dell'aorta toracica e, con minore frequenza a dissezione aortica, ma è altrettanto chiaro che i semplici cut-off dei diametri aortici per il trattamento chirurgico di sostituzione protesica del vaso in profilassi non sono sufficienti a garantire l'identificazione dell'esatto timing dell'intervento, essendo noto che la dissezione può verificarsi anche in pazienti con diametri significativamente minori dei cut-off suggeriti in letteratura.<sup>26</sup> Lo scopo del nostro progetto era quindi valutare non solo l'aspetto anatomico dell'aorta di questi pazienti ma anche l'aspetto funzionale, ultrastrutturale e genetico, alla ricerca di nuovi parametri che consentissero l'identificazione precoce dei soggetti a più elevato rischio di complicanze. Come più dettagliatamente descritto nel successivo capitolo, nel primo articolo pubblicato dal nostro gruppo di ricerca<sup>25</sup> veniva arruolata una coorte di pazienti con valvola aortica bicuspidale e un gruppo controllo. Tutti i soggetti venivano sottoposti a ecocardiogramma transtoracico convenzionale per lo studio dei diametri aortici, integrato dall'utilizzo di nuove tecniche, quali lo strain longitudinale speckle tracking 2D, fino a quel momento mai utilizzato in letteratura per lo studio dell'elasticità dell'aorta ascendente; i pazienti erano inoltre sottoposti a prelievo ematico per la ricerca di frammenti solubili dell'elastina, marcatore indiretto di un aumentato turnover delle fibre elastiche della matrice extracellulare, e alla genotipizzazione del DNA alla ricerca di una mutazione a carico del gene dell'elastina (ELN rs2071307), già in precedenza associata alla formazione di aneurismi cerebrali.<sup>27</sup> I risultati del primo articolo evidenziavano una ridotta elasticità della parete aortica, un aumento dei frammenti solubili dell'elastina nel siero e una maggiore frequenza della mutazione del gene per l'elastina sia in eterozigosi che in monozigosi nei pazienti con BAV rispetto al gruppo controllo; veniva inoltre dimostrata una stretta correlazione tra la ridotta elasticità della parete aortica, l'aumentato turnover

della matrice extracellulare e il background genetico dei pazienti, sottolineando la multifattorialità del complicato processo che favorisce la dilatazione dell'aorta ascendente in questi soggetti.<sup>25</sup>

Lo studio alla base di questa tesi è il logico passo successivo ai dati da noi ottenuti in precedenza, volto a valutare la rilevanza clinica prognostica degli elementi precedentemente riscontrati nel predire la necessità di trattamento chirurgico dell'aneurisma dell'aorta o la comparsa della dilatazione aortica nel medio-termine.

## METODI

### *Disegno dello studio*

Nella prima parte dello studio<sup>25</sup> avevamo arruolato 47 pazienti con valvola aortica bicuspidale (BAV) di cui 40 uomini e 7 donne (età media  $38 \pm 17.05$  anni), che si erano rivolti al nostro ambulatorio di Ecocardiografia per una periodica valutazione della loro patologia, e li avevamo paragonati con un gruppo controlli di soggetti sani con valvola aortica tricuspide. In entrambi i gruppi era stato prelevato un campione di sangue per il dosaggio dei FSE nel plasma e per la ricerca di una mutazione del gene per l'elastina (ELN rs2071307), responsabile della sostituzione di un aminoacido (dalla glicina alla serina) che determina una maggiore fragilità dell'elastina; in base al polimorfismo dell'elastina, i pazienti erano stati divisi in un gruppo wild type (GG), eterozigoti (GA) e omozigoti (AA) per la mutazione. Tutti i pazienti erano stati sottoposti ad ecocardiogramma transtoracico bidimensionale (ETT) per la valutazione della funzione sistolica e diastolica del ventricolo sinistro, dei diametri aortici, della morfologia della valvola aortica e dei fenotipi della valvola bicuspidale, della presenza e dell'entità di stenosi e/o insufficienza aortica, delle proprietà elastiche delle pareti aortiche, valutate quest'ultime sia con tecniche convenzionali come la stiffness, sia con parametri innovativi come lo strain longitudinale 2D speckle tracking medio delle pareti anteriore e posteriore dell'aorta ascendente. Tutti i dettagli relativi alla genotipizzazione e alla

tecnica di dosaggio dei frammenti solubili dell'elastina sono già stati ampiamente descritti nel precedente articolo<sup>25</sup>, alla cui sezione "Metodi" si rimanda il lettore per ulteriori approfondimenti.

Per lo studio dello strain longitudinale dell'aorta ascendente, come precedentemente da noi descritto, avevamo utilizzato lo stesso software usato per lo studio dello strain longitudinale globale del ventricolo sinistro (EchoPAC version 7.0.0, GE Vingmed Ultrasound AS) eseguendo le misurazioni off-line. Per prima cosa erano state acquisite brevi clip che includevano almeno tre cicli cardiaci, al termine dell'espiazione, nelle quali le pareti dell'aorta ascendente apparivano parallele tra loro, con un frame rate non inferiore a 70 frame al secondo. Successivamente, avevamo selezionato solo il ciclo cardiaco con la migliore definizione delle pareti aortiche e avevamo tracciato manualmente i contorni dell'aorta, posizionando quattro punti nella porzione interna delle pareti e ottimizzando la larghezza del campo per essere sicuri che le regioni di interesse (ROIs) includessero in modo appropriato la parete aortica. In assenza di raccomandazioni standardizzate per l'esecuzione di questa analisi, avevamo prestato particolare attenzione nell'includere gli stessi segmenti dell'aorta ascendente in tutti i pazienti, posizionando il primo punto a livello della giunzione sino-tubulare e gli altri alla stessa distanza l'uno dall'altro fino a includere una porzione di parete aortica di circa 4 cm, rendendo in questo modo le misurazioni tra un paziente e l'altro comparabili. Il software del 2D speckle tracking aveva poi automaticamente suddiviso le regioni di interesse in tre segmenti, eseguendo un'analisi automatica della qualità della misurazione; i segmenti che presentavano una qualità scarsa venivano manualmente ottimizzati; quando non era possibile ottenere una qualità sufficiente della misurazione, i pazienti venivano infine esclusi dall'analisi. Con questo procedimento, avevamo ottenuto due valori positivi di strain longitudinale, uno per la parete anteriore e uno per quella posteriore dell'aorta, indicativi dell'allungamento delle pareti del vaso durante la sistole ventricolare, e da essi avevamo ottenuto il valore medio.

Nello studio attuale, è stata esaminata la prognosi della stessa popolazione dopo un periodo di follow-up medio dal momento dell'arruolamento di circa  $48 \pm 11$  mesi. Tutti i pazienti sono stati

sottoposti ad intervista clinica allo scopo di identificare i pazienti che avevano presentato la necessità di trattamento chirurgico di un aneurisma aortico o di una dissezione. I pazienti che avevano presentato indicazione chirurgica erano stati sottoposti nel corso dell'iter preoperatorio a TC torace per la conferma dei dati sulle dimensioni dell'aorta ottenuti con l'ecocardiogramma. Inoltre, i pazienti i quali non avevano avuto necessità di trattamento chirurgico durante il periodo di follow-up sono stati nuovamente sottoposti ad ecocardiogramma transtoracico mirato alla valutazione di un eventuale incremento dei diametri aortici. Abbiamo considerato come end-point primario dello studio il trattamento chirurgico degli aneurismi o dissezioni aortiche e come end-point secondario un aumento  $\geq 1$  mm/anno del diametro di uno o più segmenti dell'aorta, allo scopo di identificare precocemente i pazienti a più elevato rischio di dilatazione aortica.

Le principali variabili che nel precedente studio si erano dimostrati probabili predittori della dilatazione e della formazione di aneurismi aortici, quali la stiffness aortica, lo strain longitudinale speckle tracking dell'aorta ascendente, i FSE e i genotipi del gene dell'elastina, sono stati valutati per stabilirne il ruolo prognostico in entrambi gli end-point. Tutti i pazienti hanno fornito il loro consenso informato a partecipare allo studio e il Comitato Etico del nostro Ospedale ha approvato il protocollo dello studio.

#### *Studio ecocardiografico di follow-up*

È stato eseguito un ecocardiogramma transtoracico bidimensionale utilizzando un ecocardiografo GE Vivid E9 (GE Vingmed Ultrasound AS, Horten, Norway), utilizzando per l'acquisizione delle immagini un frame rate di 70-90 frames al minuto. È stato eseguito un ecocardiogramma standard, ponendo particolare attenzione allo studio della valvola aortica, e dei segmenti dell'aorta ascendente. I diametri dei seni di Valsava, della giunzione sino-tubulare e dell'aorta ascendente sono stati misurati in tele-diastole con metodica "leading edge-to-leading edge", secondo le attuali linee guida.<sup>22</sup> La progressione annuale della dilatazione aortica è stata stimata come rapporto tra il delta tra il diametro aortico al follow-up e quello basale in mm e il tempo di follow-up. La presenza

e la severità della stenosi e/o dell'insufficienza aortica è stata valutata tramite analisi Doppler, secondo quanto indicato dalle più recenti linee guida, e la severità è stata classificata in gradi da 0 a 3 (0 = assente, 1 = lieve, 2 = moderata, and 3 = severa).<sup>28,29</sup> È stato inoltre eseguito un confronto tra il grado dell'insufficienza e della stenosi aortica al baseline e al follow-up (in termini di frequenza di casi lievi, moderati o severi) per valutare la progressione nel tempo della disfunzione valvolare nei BAV. La misurazione dei diametri aortici è stata eseguita separatamente da due ecocardiografisti esperti, che non erano a conoscenza dei valori al baseline, ed è stata ripetuta due volte.

#### *Analisi statistica*

Per eseguire l'analisi statistica è stato utilizzato un software dedicato (IBMSPSS, v.20). Le variabili continue e quelle categoriche sono state espresse come media  $\pm$  deviazione standard e come percentuali. Per valutare se ogni variabile avesse una distribuzione normale è stato utilizzato il test di Kolmogorov–Smirnov. Il test del  $\chi^2$  e il test di Student sono stati impiegati per comparare le variabili categoriche e continue rispettivamente tra i gruppi. Lo strain longitudinale dell'aorta ascendente è stato considerato nei modelli come variabile continua. Per confrontare le variabili categoriche tra baseline e follow-up è stato usato il test di McNemar. Le analisi di regressione univariata e multivariata di Cox sono state impiegate per identificare le variabili che erano in grado di predire l'end-point durante il follow-up. Nello specifico, ogni variabile è stata prima testata con l'analisi univariata e, successivamente, quelle che erano significativamente correlate con l'end-point sono state incluse nell'analisi multivariata per identificare i predittori indipendenti degli end-point evitando la multicollinearità. Per valutare la variabilità inter-operatore e intra-operatore delle misurazioni aortiche è stata eseguita l'analisi di Bland–Altman ed è stato calcolato il coefficiente di correlazione intra-classi (ICC). Valori di  $P \leq 0.05$  sono stati considerati significativi.

## RISULTATI

### *Caratteristiche della popolazione al baseline*

Le caratteristiche cliniche, ecocardiografiche e laboratoristiche della popolazione al baseline sono già state descritte nel nostro precedente studio.<sup>25</sup> I pazienti erano prevalentemente maschi (80%) e relativamente giovani (età media  $38 \pm 17$  anni). Nessun paziente presentava i tradizionali fattori di rischio cardiovascolari o assumeva farmaci per malattie cardiovascolari. Il fenotipo di aorta bicuspid RL (fusione tra le cuspidi destra e sinistra) è stato riscontrato nel 51% dei casi, mentre il fenotipo RN (fusione tra cuspidi destra e non coronarica) era presente nel 49%. Nessun paziente presentava il fenotipo LN (fusione tra cuspidi sinistra e non coronarica), il più raro fra i fenotipi dell'aorta bicuspid. Il rafe era presente nel 61.7% dei casi. La funzione sistolica del ventricolo sinistro era normale in tutti i pazienti, come dimostrato dalla frazione di eiezione (FE,  $59.9\% \pm 7.56\%$ ) e dallo strain longitudinale globale (GLS,  $-19.3\% \pm 2.9\%$ ).

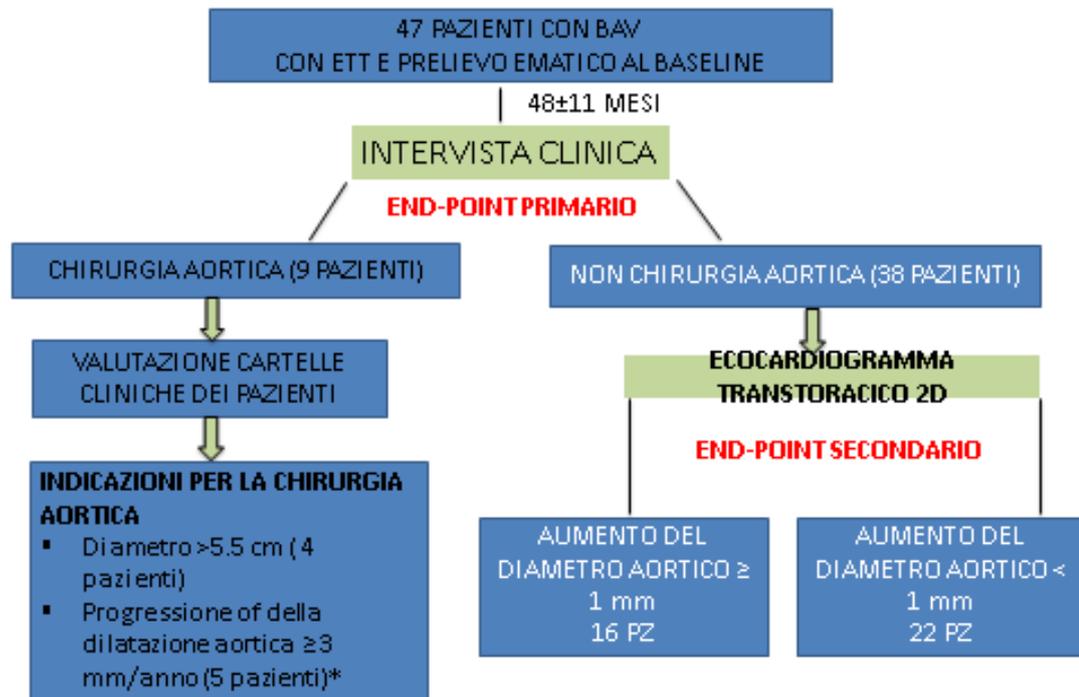
	BAV patients (n = 47)	Controls (n = 45)	P-value
2D measurements			
Valsalva sinus, mm	32.9 ± 5.9	27.7 ± 4.0	0.004
Sinotubular junction, mm	30.3 ± 5.9	26.5 ± 2.7	0.013
Ascending aorta, mm	37.4 ± 7.6	27.8 ± 2.6	<0.001
Indexed ascending aorta, mm/m <sup>2</sup>	20.3 ± 3.5	11.1 ± 5.8	<0.001
Ejection fraction, %	59.90 ± 7.56	63.75 ± 4.43	0.48
E/A	1.09 ± 0.1	0.58 ± 0.45	0.08
M-mode			
Ascending aorta distensibility	9.55 ± 9.76	12.8 ± 8.30	0.006
Ascending aorta stiffness	10.4 ± 9.9	3.5 ± 1.8	0.002
Ascending aorta M-mode strain	8.9 ± 6.5	16.62 ± 8.30	0.007
Speckle-tracking imaging			
Global longitudinal strain, %	-19.3 ± 2.9	-21.4 ± 2.5	0.01
Ascending aorta strain (anterior wall), %	43.73 ± 16.1	45.5 ± 20	0.07
Ascending aorta strain (posterior wall), %	34.8 ± 16.3	41.3 ± 16	0.004
Ascending aorta averaged strain, %	39.28 ± 11.8	43 ± 15	0.04
Ascending aorta circumferential strain, %	9.15 ± 3.47	9.42 ± 2.24	0.21

**Tabella 2.** Confronto tra pazienti con valvola aortica bicuspid e gruppo controllo. Da Longobardo et al. Eur Heart J Cardiovasc Imaging 2018<sup>25</sup>

Al contrario, la stiffness aortica era più alta ( $10.4 \pm 9.9$ ) e lo strain aortico era più basso ( $39.28\% \pm 12\%$ ) nei pazienti con bicuspidia rispetto al gruppo controllo.<sup>25</sup> I valori medi del diametro dei seni di Valsalva ( $32.9 \pm 5.9$  mm) e della giunzione sino-tubulare ( $30.3 \pm 5.9$  mm) erano normali, mentre il valore medio del diametro dell'aorta ascendente era lievemente aumentato ( $37.4 \pm 7.6$  mm). Una stenosi aortica severa era stata riscontrata in due pazienti, mentre una insufficienza severa era stata repertata in cinque casi.<sup>25</sup> I dati circa il confronto tra i pazienti con valvola aortica bicuspidale al baseline e gruppo controllo sono riassunti nella Tabella 2.

*Eventi durante il follow-up: end-point primario e secondario*

Tutti i 47 pazienti precedentemente arruolati sono stati rivalutati dopo un periodo di follow-up di  $48 \pm 11$  mesi (Figura 7).



*\*con anamnesi familiare positiva per dissezione aortica e un diametro dell'aorta ascendente tra 5.1 and 5.3 cm prima della chirurgia.*

**Figura 7.** Diagramma della popolazione inclusa nello studio. BAV: valvola aortica bicuspidale.

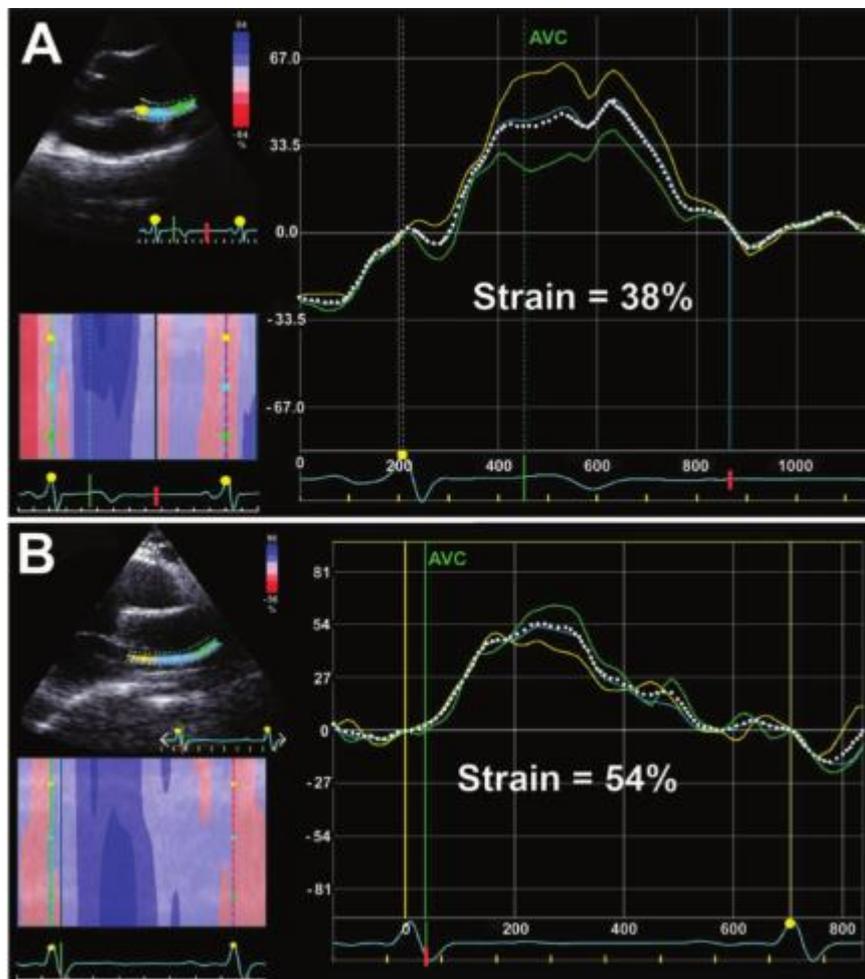
Nove pazienti (19%) sono stati sottoposti a trattamento chirurgico di un aneurisma aortico (end-point primario). Come è stato possibile evincere dalle cartelle cliniche esaminate, in nessun caso l'indicazione chirurgica è stata una dissezione aortica ma si è trattato in tutti i pazienti di un trattamento elettivo dovuto alle seguenti motivazioni: comparsa di significativa dilatazione aortica, con un diametro dell'aorta ascendente > 5,5 cm (quattro pazienti); rapida progressione della dilatazione aortica annuale  $\geq 3$  mm/anno con un diametro dell'aorta ascendente tra 5,1 e 5,3 cm e una storia familiare di dissezione aortica (cinque pazienti). In tutti e nove i pazienti è stata eseguita contestualmente la sostituzione della valvola aortica, indipendentemente dalla severità della patologia valvolare.

Variabile	No chirurgia (n=38)	Chirurgia (n=9)	P value
Età (anni)	36±17	43±14.5	0.078
PAS (mmHg)	116.5±14.5	121±18	0.430
PAD (mmHg)	69±9	69±8	0.772
Pressione differenziale (mmHg)	47±14	52.5±20	0.324
FE VS (%)	60.5±7	59±9	0.488
GLS VS (%)	-19±3	-19±3	0.539
Seni di Valsalva al baseline (mm)	32±5	32±0	0.855
GST al baseline (mm)	28±5	41±0	<b>&lt;0.001</b>
Aorta ascendente al baseline (mm)	34.5±6	49±8	<b>0.035</b>
Stiffness dell'aorta ascendente	7.5±7	12±9	0.138
Strain longitudinale dell'aorta ascendente (%)	44±17	30±17	<b>0.036</b>
Frammenti solubili dell'elastina (ng/mL)	56.8±7.6	62.3±6.4	<b>0.021</b>
Genotipo			0.324
GG (wild-type)	34.2 (13)	33.3 (3)	
GA	44.7 (17)	44.5 (4)	
AA	21.1 (8)	22.2 (2)	
Stenosi aortica (baseline)			0.844
No/lieve	81.6 (31)	77.8 (7)	
Moderata	13.1 (5)	22.2 (2)	
Severa	5.3 (2)	0 (0)	
Insufficienza aortica (baseline)			0.322
No/lieve	73.7 (28)	66.7 (6)	
Moderata	15.8 (6)	22.2 (2)	
Severa	10.5 (4)	11.1 (1)	

**Tabella 3.** Confronto tra pazienti sottoposti a chirurgia aortica e pazienti non trattati. I dati sono presentati come media  $\pm$  deviazione standard o come numero (%). In grassetto i dati con significatività statistica.

PAS: Pressione arteriosa sistolica. PAD: Pressione arteriosa diastolica. FE VS: Frazione di eiezione del ventricolo sinistro. GLS VS: Strain longitudinale globale del ventricolo sinistro. GST: Giunzione sino-tubulare.

Tutti i pazienti, inoltre, erano asintomatici al momento dell'intervento e l'entità della valvulopatia aortica non era menzionata come indicazione all'intervento in nessun caso. Un confronto delle caratteristiche dei pazienti che sono stati sottoposti a trattamento chirurgico e quelli in cui l'intervento non si è reso necessario è riportato nella Tabella 3. I pazienti sottoposti ad intervento mostravano diametri della giunzione sino-tubulare e dell'aorta ascendente al baseline maggiori rispetto all'altro gruppo. Inoltre lo strain longitudinale al baseline era significativamente più basso (Figura 8) e la quantità di FSE più elevata nel gruppo di pazienti trattati.



**Figura 8.** Esempi di strain longitudinale dell'aorta ascendente in un paziente sottoposto a trattamento chirurgico dell'aorta ascendente (A) e in un paziente che non ha avuto necessità del trattamento durante il follow-up e non mostrava una progressione della dilatazione aortica  $\geq 1$  mm/anno (B).

Di converso, non c'era una differenza significativa al baseline tra i due gruppi in termini di età, pressione arteriosa, frazione di eiezione del ventricolo sinistro, GLS, stiffness arteriosa, severità

della valvulopatia aortica e polimorfismo genetico del gene dell'elastina ELN rs2071307. Come già descritto, il gruppo di 38 pazienti che non avevano avuto indicazione al trattamento chirurgico è

Variabili	Aumento del diametro ≤1 mm/anno (n=22)	Aumento del diametro ≥1 mm/anno (n=16)	P
Età (anni)	29.5±14	40±20	<b>0.016</b>
PAS (mmHg)	117.62±14.5	117.5±16.7	0.491
PAD (mmHg)	69.5±8	69±10	0.752
Pressione differenziale (mmHg)	43±15.5	48±12.5	<b>0.035</b>
FE VS (%)	63±5.5	60±6.5	0.088
GLS VS (%)	-19.3±2	-19.7±2.5	0.354
Seni di Valsalva al baseline (mm)	32±3.5	32±7	0.758
GST al baseline (mm)	27±3.5	27±7	0.866
Aorta ascendente al baseline (mm)	34±5	36±8	0.214
Seni di Valsalva al follow-up (mm)	35±3.5	38±2.5	<b>0.046</b>
GST al follow-up (mm)	30±2.5	31±3.5	0.870
Aorta ascendente al follow-up (mm)	37±3.5	42±4	<b>0.032</b>
Stiffness dell'aorta ascendente al baseline	5±2.5	9±9	<b>0.025</b>
Strain longitudinale dell'aorta ascendente al baseline(%)	48.5±19	39±14.5	<b>0.028</b>
Frammenti solubili dell'elastina (ng/mL)	59.1±6.2	61.8±5.4	0.063
Genotipo			<b>0.041</b>
GG (wild-type)	36.3 (8)	31.2 (5)	
GA	59.1 (13)	50 (4)	
AA	4.6 (1)	43.8 (7)	
Stenosi aortica al baseline			0.776
No/lieve	81.8 (18)	81.3 (13)	
Moderata	13.6 (3)	12.5 (2)	
Severa	4.6 (1)	6.2 (1)	
Stenosi aortica al follow-up			0.798
No/lieve	77.3 (17)	75 (12)	
Moderata	13.6 (3)	12.5 (2)	
Severa	9.1 (2)	12.5 (2)	
Insufficienza aortica al baseline			0.142
No/lieve	72.7 (16)	75 (12)	
Moderata	18.2 (4)	12.5 (2)	
Severa	9.1 (2)	12.5 (2)	
Insufficienza aortica al follow-up			0.111
No/lieve	68.2 (15)	62.5 (10)	
Moderata	22.7 (5)	25 (4)	
Severa	9.1 (2)	12.5 (2)	

**Tabella 4.** Confronto tra pazienti che presentavano una progressione della dilatazione di uno o più diametri aortici ≥1 mm/anno e quelli che non la presentavano. I dati sono presentati come media ± deviazione standard o come numero (%). In grassetto i dati con significatività statistica.

PAS: Pressione arteriosa sistolica. PAD: Pressione arteriosa diastolica. FE VS: Frazione di eiezione del ventricolo sinistro. GLS VS: Strain longitudinale globale del ventricolo sinistro. GST: Giunzione sino-tubulare.

stato sottoposto a una nuova rivalutazione ecocardiografica focalizzata sullo studio dei diametri aortici e della valvulopatia aortica; tutti i pazienti erano asintomatici al momento dell'esame. I valori medi dei diametri aortici erano significativamente incrementati al follow-up rispetto al baseline (seni di Valsalva  $35.1 \pm 5.1$  vs.  $31.9 \pm 5.3$  mm,  $P < 0.001$ ; giunzione sino-tubulare  $30.3 \pm 4.1$  vs.  $28.9 \pm 5.1$  mm,  $P = 0.001$ ; aorta ascendente  $37 \pm 5.9$  vs.  $34.1 \pm 6.2$  mm,  $P < 0.001$ ), sebbene persistessero nell'ambito della normalità, con una media di dilatazione dei segmenti aortici di  $0.63 \pm 0.3$  mm/anno per i seni di Valsalva,  $0.43 \pm 0.2$  mm/anno per la giunzione sino-tubulare e  $0.58 \pm 0.3$  mm/anno per l'aorta ascendente.

Sedici pazienti presentavano un incremento di uno o più diametri aortici  $\geq 1$  mm/anno (end-point secondario), e la dilatazione coinvolgeva i seni di Valsalva in sei pazienti, l'aorta ascendente in otto pazienti ed entrambi i seni di Valsalva e la giunzione sino-tubulare in due casi. La Tabella 4 riassume le principali caratteristiche del gruppo di pazienti che raggiungevano l'end-point secondario e li confronta con il gruppo di pazienti che non presentava una significativa progressione dei diametri aortici. I pazienti del primo gruppo erano significativamente più vecchi e presentavano uno strain longitudinale più basso e una quantità di FSE più alta al baseline rispetto all'altro gruppo. Inoltre, la presenza della mutazione del gene dell'elastina era significativamente correlata con la progressione della dilatazione aortica. Di converso, non risultavano significative differenze tra i due gruppi relativamente alle altre variabili, inclusi i diametri aortici al baseline e la pressione arteriosa. Come mostrato nella Tabella 5 si evinceva in entrambi i gruppi una lieve, non significativa progressione della valvulopatia aortica nel tempo. In dettaglio, nei pazienti che non raggiungevano l'end-point secondario si riscontrava un caso di peggioramento della stenosi aortica (da lieve a severa) e uno dell'insufficienza aortica (da lieve a moderato), mentre nel gruppo con una dilatazione annuale dell'aorta  $\geq 1$  mm si riscontrava un caso di peggioramento della stenosi aortica da lieve a severa e due casi di peggioramento dell'insufficienza aortica da lieve a moderata.

	Aumento del diametro $\leq 1$ mm/anno (n=22)			Aumento del diametro $\geq 1$ mm/anno (n=16)		
	Baseline	Follow-up	P	Baseline	Follow-up	P
Stenosi aortica						0.058
No/lieve	81.8 (18)	77.3 (17)	0.083	81.3 (13)	75 (12)	
Moderata	13.6 (3)	13.6 (3)		12.5(2)	12.5 (2)	
Severa	4.6 (1)	9.1 (2)		6.2 (1)	12.5 (2)	
Insufficienza aortica						0.062
No/lieve	72.7(16)	68.2 (15)	0.105	75 (12)	62.5 (10)	
Moderata	18.2 (4)	22.7 (5)		12.5 (2)	25 (4)	
Severa	9.1 (2)	9.1 (2)		12.5 (2)	12.5 (2)	

**Tabella 5.** Confronto tra severità della stenosi e dell'insufficienza aortica al baseline e al follow-up in pazienti con e senza progressione della dilatazione aortica  $\geq 1$  mm/anno.

#### *Associazione tra le variabili e l'endpoint primario*

Come precedentemente affermato, nove pazienti sono stati sottoposti a trattamento chirurgico di un aneurisma aortico (end-point primario). Le analisi di regressione di Cox univariata e multivariata sono state eseguite per testare la correlazione tra le variabili e l'end-point. Come riassunto nella Tabella 6, lo strain longitudinale dell'aorta ascendente, l'età maggiore e una aumentata quantità di frammenti solubili dell'elastina erano significativamente correlati alla necessità di trattamento chirurgico all'analisi univariata, mentre le altre variabili, incluse la pressione arteriosa sistolica (P = 0.15) e diastolica (P = 0.87), la frazione di eiezione del ventricolo sinistro, (LVEF, P = 0.17), il GLS (P = 0.44), la stiffness aortica (P = 0.06), e la presenza del polimorfismo del gene per l'elastina (P = 0.54), non erano correlati in maniera significativa all'endpoint. All'analisi multivariata, tuttavia, soltanto un ridotto strain longitudinale dell'aorta ascendente rimaneva un predittore statisticamente significativo di trattamento chirurgico [hazard ratio (HR) 0.961, 95% intervallo di confidenza (IC) 0.924–0.984; P = 0.04]. Questi dati indicano che i pazienti con valori assoluti più bassi di strain longitudinale dell'aorta ascendente avevano una più alta probabilità di soddisfare l'end-point primario.

Variabili significative	Analisi di regressione di Cox univariata		Analisi di regressione di Cox multivariata	
	P	Hazard ratio (intervallo di confidenza 95%)	P	Hazard ratio (intervallo di confidenza 95%)
strain longitudinale aorta ascendente	0.029	0.955 (0.916-0.995)	0.04	0.961 (0.924-0.984)
Età	0.031	1.036 (1.003-1.071)	NS	NS
Frammenti solubili dell'elastina	0.015	1.03 (1.00-1.06)	NS	NS

**Tabella 6.** Analisi di regressione di Cox univariata e multivariata per la capacità delle variabili di predire la necessità del trattamento chirurgico dell'aorta ascendente (end-point primario). NS: non significativo.

#### *Associazione tra variabili e dilatazione aortica progressiva*

Dei trentotto pazienti non sottoposti a trattamento chirurgico dell'aneurisma aortico, dopo un follow-up di  $48 \pm 11$  mesi, sedici presentavano un incremento dei diametri aortici  $\geq 1$  mm/anno in uno o più segmenti dell'aorta (end-point secondario). Come riassunto nella Tabella 7, l'analisi di regressione univariate di Cox dimostrava che l'età più avanzata, l'aumentata pressione differenziale, la maggiore stiffness aortica e un ridotto strain longitudinale dell'aorta ascendente erano significativamente correlate all'endpoint. Al contrario, non risultavano statisticamente significative le correlazioni tra l'endpoint e la pressione arteriosa sistolica ( $P = 0.57$ ) e diastolica ( $P = 0.15$ ), la frazione di eiezione del ventricolo sinistro ( $P = 0.06$ ), e il GLS ( $P = 0.27$ ). Nella nostra popolazione è stato inoltre osservato che i pazienti con progressione della dilatazione dell'aorta presentavano più frequentemente il polimorfismo del gene dell'elastina ( $P = 0.07$ ) e una aumentata quantità di FSE ( $P = 0.06$ ), sebbene questo trend non raggiungesse la significatività statistica. All'analisi multivariata, di nuovo soltanto lo strain longitudinale dell'aorta ascendente si confermava come predittore indipendente dell'end-point secondario (HR 0.960, 95% IC 0.932–0.989;  $P = 0.007$ ).

Variabili significative	Analisi di regressione di Cox univariata		Analisi di regressione di Cox multivariata	
	<i>P</i>	Hazard ratio (intervallo di confidenza 95%)	<i>P</i>	Hazard ratio (intervallo di confidenza 95%)
strain longitudinale aorta ascendente	<0.001	0.970 (0.947-0.993)	0.007	0.960 (0.932-0.989)
Età	<0.001	1.040 (1.020-1.061)	NS	NS
Pressione differenziale	0.01	1.041 (1.009-1.073)	NS	NS
Stiffness dell'aorta ascendente	<0.001	1.094 (1.041-1.150)	NS	NS

**Tabella 7.** Analisi di regressione di Cox univariata e multivariata per la capacità delle variabili di predire la progressione della dilatazione di uno o più segmenti aortici  $\geq 1$  mm/anno (end-point secondario). NS: non significativo.

#### *Variabilità intra-osservatore ed inter-osservatore*

La differenza media assoluta  $\pm$  DS delle misurazioni dello strain longitudinale dell'aorta ascendente, nell'ambito dello stesso osservatore e tra due osservatori, sono state rispettivamente  $1.5 \pm 1.1\%$  e  $1.7 \pm 1.2\%$ . Il ICC intraosservatore è stato 0.891, quello interosservatore 0.841.

La differenza media assoluta  $\pm$  DS delle misurazioni dei diametri dell'aorta ascendente al baseline è stata  $0.65 \pm 0.22$  mm nell'ambito dello stesso osservatore e  $0.74 \pm 0.26$  mm tra due osservatori. Il ICC intraosservatore è stato 0.911, quello interosservatore 0.902.

La differenza media assoluta  $\pm$  DS delle misurazioni dei diametri dell'aorta ascendente al follow-up è stata di  $0.66 \pm 0.25$  mm nell'ambito di un osservatore e  $0.78 \pm 0.29$  mm tra due osservatori. Il ICC intraosservatore è stato 0.908, quello interosservatore 0.897.

## DISCUSSIONE

I principali risultati ottenuti in questo studio sono i seguenti: 1) in una popolazione di 47 pazienti con valvola aortica bicuspidale valutati dopo un follow-up medio di quattro anni, nove pazienti hanno presentato complicazioni aortiche trattate con intervento chirurgico elettivo; 2) considerando solo i pazienti non sottoposti a chirurgia dell'aorta, sedici presentavano un incremento dei diametri aortici  $\geq 1$  mm/anno; 3) valori assoluti più bassi di strain longitudinale dell'aorta ascendente erano significativamente associati a necessità di trattamento chirurgico (endpoint primario) e progressiva dilatazione aortica (endpoint secondario).

La valvola aortica bicuspidale è il difetto cardiaco congenito più comune nella popolazione, interessando in 2% degli adulti. La storia naturale della malattia non è ancora completamente chiara, in particolare riguardo all'identificazione dei pazienti a più elevato rischio di complicanze aortiche. Le attuali linee-guida raccomandano la sostituzione chirurgica dell'aorta ascendente in profilassi della dissezione acuta di tipo A in pazienti con BAV e un aneurisma aortico con diametro  $> 5,5$  cm o con un diametro tra 5 e 5,6 se coesistono fattori di rischio tra cui familiarità per dissezione o morte cardiaca improvvisa o una rapida progressione della dilatazione aortica, anche in assenza di una concomitante valvulopatia aortica.<sup>11</sup> Tuttavia è stato ampiamente dimostrato che una significativa percentuale di dissezioni aortiche acute si verificano in pazienti con un aneurisma dell'aorta ascendente di diametro  $< 5,5$  cm. Infatti, Pape et al.<sup>30</sup> hanno dimostrato che il 59% dei pazienti con dissezione aortica acuta di tipo A presentavano un diametro dell'aorta ascendente  $< 5,5$  cm e il 40% avevano un diametro  $< 5$  cm. Risultati simili sono stati ottenuti da Parish et al.<sup>31</sup> che hanno riportato che il 62% dei 177 pazienti non-Marfan con valvola aortica tricuspide e dissezione aortica di tipo A presentavano un diametro aortico massimo  $< 5,5$  cm mentre il 42% aveva un diametro aortico massimo  $< 5$  cm e  $> 20\%$  un diametro aortico massimo  $< 4,5$  cm. D'altra parte è stato anche riportato in letteratura che i diametri aortici al baseline sono buoni predittori di dissezione aortica.<sup>32</sup> Questi dati dimostrano chiaramente che le dimensioni dell'aortica da sole sono

un predittore discutibile del rischio di complicanze aortiche e che il diametro aortico è solo un pezzo del complesso puzzle coinvolto nella dilatazione e dissezione dell'aorta. Sembra quindi piuttosto chiaro che sarebbe fondamentale trovare nuovi marcatori più sensibili in grado di identificare i pazienti ad elevato rischio di dilatazione e dissezione aortica. Nel nostro precedente studio<sup>25</sup> abbiamo descritto una popolazione di pazienti con valvola aortica bicuspidale con ridotta elasticità aortica, come dimostrato dall'aumentata stiffness e dal ridotto strain longitudinale aortico rispetto a un gruppo controllo di soggetti sani con età e prevalenza di genere simile. Le alterazioni funzionali dell'aorta ascendente trovano riscontro nella presenza di una mutazione dell'elastina dovuta a un polimorfismo di un singolo nucleotide (ELN rs2071307) e nella quantità dei frammenti solubili dell'elastina nel siero. Infatti, abbiamo dimostrato che si evidenziava un progressivo aumento dei frammenti solubili dell'elastina dai pazienti con pattern wild-type fino a quelli con mutazione in omozigosi del gene (AA), e che la ridotta elasticità aortica presentava lo stesso trend.

Le fibre elastiche sono la principale componente della matrice extracellulare della tonaca media della parete aortica e forniscono distensibilità al vaso. Nei pazienti con valvola aortica bicuspidale le fibre elastiche sono spesso sostituite da collagene, che rende le pareti aortiche più rigide e meno elastiche, elemento questo che spiega il ridotto strain longitudinale speckle tracking 2D dell'aorta ascendente. Tutte queste alterazioni possono favorire la dilatazione aortica e la formazione di aneurismi. Nel presente studio, abbiamo sperimentato l'efficacia di marcatori funzionali (la stiffness e lo strain longitudinale dell'aorta ascendente), genetici (il polimorfismo ELN rs2071307 del gene dell'elastina) e ultrastrutturali (i frammenti solubili dell'elastina) come predittori sia della comparsa di aneurismi che richiedono un trattamento chirurgico sia del progressivo incremento delle dimensioni aortiche nel tempo. L'evidenza che solo lo strain longitudinale dell'aorta ascendente è in grado di predire la dilatazione aortica e la necessità di intervento chirurgico è sorprendente e atteso nello stesso tempo. L'efficacia dello strain longitudinale dell'aorta ascendente può essere compresa se si considera che le alterazioni funzionali spesso precedono i cambiamenti anatomici nella

fisiopatologia cardiovascolare. Infatti questo concetto sta divenendo sempre più chiaro, a cominciare dalla precoce riduzione dello strain longitudinale globale del ventricolo sinistro anche quando la frazione di eiezione è normale in numerosi contesti patologici,<sup>33</sup> fino alla riduzione della capacità di reservoir dell'atrio sinistro in pazienti con scompenso cardiaco a frazione di eiezione conservata e normale volume atriale indicizzato.<sup>34</sup> Nuove tecnologie come lo strain longitudinale speckle tracking 2D permettono l'identificazione di alterazioni minime dell'elasticità tissutale, ed è stato dimostrato che esse sono anche in grado di identificare la fibrosi.<sup>35</sup> È interessante considerare che nella nostra popolazione nessun paziente è stato colpito da dissezione aortica. Ciò può essere probabilmente dovuto al fatto che, rispetto alla popolazione arruolata in altri studi, la nostra coorte originale era costituita da pazienti piuttosto giovani con diametri aortici al baseline nella norma, ad eccezione di un lieve incremento delle dimensioni dell'aorta ascendente. Pertanto è ragionevole ipotizzare che nei nostri pazienti il processo di rimodellamento aortico fosse nelle fasi iniziali e che le modificazioni anatomiche sarebbero comparse più tardi, come dimostrato dai dati del follow-up. Al contrario, la riduzione dell'elasticità e l'aumento delle fibre collagene si verifica precocemente nei pazienti con valvola aortica bicuspidale, come precedentemente dimostrato da Nisri et al.<sup>23</sup> e confermato dai ridotti valori di strain longitudinale speckle tracking 2D dell'aorta ascendente riscontrato nei nostri pazienti in confronto con il gruppo di controllo nel nostro precedente studio;<sup>25</sup> l'uso dello strain longitudinale sembra quindi in grado di evidenziare precocemente queste alterazioni, fornendo un marcatore precoce del rischio di dilatazione aortica e della formazione di aneurismi utile per identificare un sottogruppo di pazienti ad elevato rischio che necessitano una più stretta sorveglianza, anche quando i diametri aortici sono ancora normali.

Considerando soltanto i 38 pazienti che non hanno avuto necessità di intervento chirurgico nella nostra popolazione, 16 hanno mostrato una progressiva dilatazione dell'aorta  $\geq 1$  mm/anno, soddisfacendo l'end-point secondario del nostro studio. L'entità della progressione dei diametri aortici è stata simile a quanto già riportato in letteratura.<sup>36</sup> Noi siamo consapevoli che le attuali linee-guida

suggeriscono un valore di 3 mm/anno come cut-off per considerare rapida la progressione della dilatazione dell'aorta e indicare un trattamento chirurgico.<sup>11</sup> Ciononostante, abbiamo scelto di utilizzare un valore di cut-off più basso proprio per testare l'efficacia prognostica dello strain longitudinale dell'aorta ascendente nel predire precocemente la progressione subclinica dei diametri aortici. Tuttavia, considerando che la progressione è indicizzata per anno con un periodo medio di follow-up di  $48 \pm 11$  mesi, è necessario ricordare che i pazienti devono aver dimostrato un aumento dei diametri di almeno 4 mm dal baseline per poter soddisfare l'end-point secondario. Pertanto siamo piuttosto fiduciosi che l'evidenza della progressione dei diametri aortici non possa essere attribuita alla variabilità nell'eseguire le misurazioni, che è stata stimata essere di circa 1 mm, come già riportato.

Nella nostra coorte di pazienti, la quantità dei frammenti solubili dell'elastina e il polimorfismo del gene dell'elastina ELN rs2071307 non hanno dimostrato una correlazione statisticamente significativa con la prognosi. È nostra opinione che questo risultato possa essere dovuto alle ridotte dimensioni del campione. Il ruolo prognostico dei frammenti solubili dell'elastina è stato già ampiamente testato in letteratura per la valutazione degli aneurismi addominali da Lindholt et al.<sup>37-39</sup> Gli autori hanno dimostrato che i frammenti solubili dell'elastina predicevano l'espansione dell'aneurisma aortico fino a dimensioni richiedenti l'intervento chirurgico durante un periodo di follow-up di cinque anni con una sensibilità e specificità rispettivamente del 91% e 94% e che si evidenziava una stretta correlazione tra la quantità di frammenti solubili e l'entità dell'espansione dell'aneurisma. Inoltre nel nostro precedente studio<sup>25</sup> abbiamo riscontrato che un progressivo aumento della quantità di frammenti solubili dell'elastina si evidenziava a partire da pazienti con pattern genetico wild-type fino a pazienti con mutazione omozigote del gene dell'elastina e che la riduzione dell'elasticità aortica seguiva lo stesso trend. Sono necessari ulteriori studi su popolazioni più numerose per comprendere in modo più completo il reale valore prognostico di questi elementi.

## LIMITI

Il principale limite di questo studio è la ridotta dimensione del campione di pazienti in esame, con un ridotto numero di eventi per l'end-point primario, che rende l'analisi di Cox meno affidabile. Pertanto, sebbene i risultati ottenuti siano di grande interesse, è necessario che essi vengano confermati con studi randomizzati su popolazioni più numerose, per permettere che lo strain longitudinale speckle tracking 2D possa entrare nella pratica clinica in questo contesto patologico. Inoltre, noi abbiamo utilizzato un periodo di follow-up di circa  $48 \pm 11$  mesi; un periodo di follow-up più lungo potrebbe aiutare a comprendere meglio il valore prognostico di questo parametro. In aggiunta a quanto detto, è necessario sottolineare che non si è verificato alcun caso di dissezione aortica nella nostra popolazione e che i pazienti sottoposti a trattamento chirurgico presentavano una indicazione in elezione. Pertanto, il ruolo dello strain longitudinale speckle tracking 2D dell'aorta ascendente nel predire il rischio di dissezione aortica non può essere valutato. Infine, come già discusso,<sup>25</sup> il software per lo strain longitudinale speckle tracking 2D, usato per la prima volta dal nostro gruppo di ricerca per lo studio dell'elasticità dell'aorta ascendente, è stato creato per la valutazione della funzione sistolica del ventricolo sinistro e la sua applicazione per i grossi vasi non è ancora ben stabilita; tuttavia, lo stesso software è stato utilizzato con successo per lo studio dell'aorta addominale<sup>40-42</sup> e noi abbiamo già dimostrato che è uno strumento accurato nello studio dell'elasticità dell'aorta ascendente.

## CONCLUSIONI

La riduzione dell'elasticità aortica è un'alterazione precoce che si verifica nei pazienti con valvola aortica bicuspidale ed è uno dei meccanismi fisiopatologici dell'aortopatia in questi soggetti. Lo strain longitudinale speckle tracking 2D dell'aorta ascendente sembra essere in grado di evidenziare questa alterazione e di identificare un sottogruppo di pazienti con più elevato rischio di complicanze aortiche. Sebbene questi dati debbano essere considerati con cautela data l'assenza di grandi studi randomizzati, se confermati sembrano dimostrare che lo strain longitudinale dell'aorta ascendente potrebbe essere un efficace strumento per identificare quei pazienti che necessitano una più stretta sorveglianza clinica, anche quando i diametri aortici sono ancora nella norma.

## BIBLIOGRAFIA

1. Hoffman J, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1890–900.
2. Movahed MR, Hepner AD, Ahmadi-Kashani M. Echocardiographic prevalence of bicuspid aortic valve in the population. *Heart Lung Circ* 2006;15:297–9.
3. Detaint D, Michelena HI, Nkomo VT, Vahanian A, Jondeau G, Sarano ME. Aortic dilatation patterns and rates in adults with bicuspid aortic valves: a comparative study with Marfan syndrome and degenerative aortopathy. *Heart* 2014;100:126–34.
4. Masri A, Kalahasti V, Alkharabsheh S, Svensson LG, Sabik JF, Roselli EE, et al. Characteristics and long-term outcomes of contemporary patients with bicuspid aortic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2016;151:1650–1659.e1.
5. Januzzi JL, Isselbacher EM, Fattori R, Cooper JV, Smith DE, Fang J, et al. Characterizing the young patient with aortic dissection: results from the International Registry of Aortic Dissection (IRAD). *J Am Coll Cardiol* 2004;43:665–9.
6. Longobardo L, Jain R, Carerj S, Zito C, Khandheria BK, Bicuspid Aortic Valve: Unlocking the Morphogenetic Puzzle, *The American Journal of Medicine* (2016).
7. Sabet HY, Edwards WD, Tazelaar HD, Daly RC. Congenitally bicuspid aortic valves: a surgical pathology study of 542 cases (1991 through 1996) and a literature review of 2,715 additional cases. *Mayo Clin Proc.* 1999;74:14-26.
8. Sievers HH, Schmidtke C. A classification system for the bicuspid aortic valve from 304 surgical specimens. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007;133:1226-1233.
9. Michael A. Borger, Paul W. M. Fedak, Elizabeth H. Stephens, Thomas G. Gleason, Evaldas Girdauskas, John S. Ikonomidis et al. The American Association for Thoracic Surgery consensus guidelines on bicuspid aortic valve–related aortopathy: Full online-only version. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2018 August ; 156(2): e41–e74.

10. Fernández B, Durán AC, Fernández-Gallego T, et al. Bicuspid aortic valves with different spatial orientations of the leaflets are distinct etiological entities. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54:2312-2318.
11. Helmut Baumgartner, Volkmar Falk, Jeroen J Bax, Michele De Bonis, Christian Hamm, Per Johan Holm, et al. 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *Eur Heart J.* 2017 Sep 21;38(36):2739-2791
12. Della Corte A, Bancone C, Buonocore M, Dialetto G, Covino FE, Manduca S, et al. Pattern of ascending aortic dimensions predicts the growth rate of the aorta in patients with bicuspid aortic valve. *JACC Cardiovasc Imaging* 2013;6: 1301–10.
13. Riti Mahadevia, Alex J. Barker et al. Bicuspid Aortic Cusp Fusion Morphology Alters Aortic Three-Dimensional Outflow Patterns, Wall Shear Stress, and Expression of Aortopathy. *Circulation.* 2014;129:673-682.
14. van Ooij P, Potters WV, Nederveen AJ, Allen BD, Collins J, Carr J, et al. A methodology to detect abnormal relative wall shear stress on the full surface of the thoracic aorta using four-dimensional flow MRI. *Magn Reson Med* 2015;73:1216–27.
15. Garcia J, Markl M, Schnell S, Allen B, Entezari P, Mahadevia R, et al. Evaluation of aortic stenosis severity using 4D flow jet shear layer detection for the measurement of valve effective orifice area. *Magn Reson Imaging* 2014;32: 891–8.
16. Barker AJ, Lanning C, Shandas R. Quantification of hemodynamic wall shear stress in patients with bicuspid aortic valve using phase-contrast MRI. *Ann Biomed Eng* 2010;38:788–800.
17. McKellar SH, Michelena HI, Li Z, et al. Long-term risk of aortic events following aortic valve replacement in patients with bicuspid aortic valves. *Am J Cardiol.* 2010;106:1626-1633.

18. de Sa M, Moshkovitz Y, Butany J, David TE. Histologic abnormalities of the ascending aorta and pulmonary trunk in patients with bicuspid aortic valve disease: clinical relevance to the Ross procedure. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999;118:588-594
19. Koullias GJ, Korkolis DP, Ravichandran P, et al. Tissue microarray detection of matrix metalloproteinases, in diseased tricuspid and bicuspid aortic valves with or without pathology of the ascending aorta. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2004;26:1098-1103
20. Boyum J, Fellingner EK, Schmoker JD, et al. Matrix metalloproteinase activity in thoracic aortic aneurysms associated with bicuspid and tricuspid aortic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;127:686-691.
21. Rabkin SW. Differential expression of MMP-2, MMP-9 and TIMP proteins in thoracic aortic aneurysm - comparison with and without bicuspid aortic valve: a meta-analysis. *Vasa.* 2014;43:433-442
22. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2015;28: 1–39.e14.
23. Nistri S, Grande-Allen J, Noale M, Basso C, Siviero P, Maggi S et al. Aortic elasticity and size in bicuspid aortic valve syndrome. *Eur Heart J* 2008;29:472–9.
24. Oulego-Eroz I, Alonso-Quintela P, Mora-Matilla M, Gautreaux Minaya S, Lapena L, de Armentia S. Ascending aorta elasticity in children with isolated bicuspid aortic valve. *Int J Cardiol* 2013;168:1143–6.
25. Longobardo L, Carerj ML, Pizzino G, Bitto A, Piccione MC, Zucco M et al. Impairment of elastic properties of the aorta in bicuspid aortic valve: relationship between biomolecular and aortic strain patterns. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2018;19:879–87
26. Coady MA, Rizzo JA, Hammond GL, et al. What is the appropriate size criterion for resection of thoracic aortic aneurysms? *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;113:476–91.

27. Yang S, Wang T, You C, Liu W, Zhao K, Sun H et al. Association of polymorphisms in the elastin gene with sporadic ruptured intracranial aneurysms and unruptured intracranial aneurysms in Chinese patients. *Int J Neurosci* 2013;123: 454–8.
28. Baumgartner H, Hung J, Bermejo J, Chambers JB, Evangelista A, Griffin BP et al. Echocardiographic assessment of valve stenosis: EAE/ASE recommendations for clinical practice. *Eur J Echocardiogr* 2009;10:1–25.
29. Lancellotti P, Tribouilloy C, Hagendorff A, Popescu BA, Edvardsen T, Pierard LA et al.; On behalf of the Scientific Document Committee of the European Association of Cardiovascular Imaging. Recommendations for the echocardiographic assessment of native valvular regurgitation: an executive summary from the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013;14:611–44.
30. Pape LA, Tsai TT, Isselbacher EM, Oh JK, O’Gara PT, Evangelista A et al. Aortic diameter  $>5.5$  cm is not a good predictor of type A aortic dissection: observations from the International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD). *Circulation* 2007;116:1120–7.
31. Parish LM, Gorman JH 3rd, Kahn S, Plappert T, St John-Sutton MG, Bavaria JE et al. Aortic size in acute type A dissection: implications for preventive ascending aortic replacement. *Eur J Cardiothorac Surg* 2009;35:941–5; discussion 5–6.
32. Kim JB, Spotnitz M, Lindsay ME, MacGillivray TE, Isselbacher EM, Sundt TM 3rd. Risk of aortic dissection in the moderately dilated ascending aorta. *J Am Coll Cardiol* 2016;68:1209–19.
33. Zito C, Longobardo L, Citro R, Galderisi M, Oreto L, Carerj ML et al. Ten years of 2D longitudinal strain for early myocardial dysfunction detection: a clinical overview. *Biomed Res Int* 2018;2018:1–14.
34. Longobardo L, Zito C, Carerj S, Khandheria BK. Left atrium in heart failure with preserved ejection fraction: the importance of function before anatomy. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2017;18:730–1.

35. Longobardo L, Todaro MC, Zito C, Piccione MC, Di Bella G, Oreto L et al. Role of imaging in assessment of atrial fibrosis in patients with atrial fibrillation: state-of-the-art review. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2014;15:1–5.
36. La Canna G, Ficarra E, Tsagalau E, Nardi M, Morandini A, Chieffo A et al. Progression rate of ascending aortic dilation in patients with normally functioning bicuspid and tricuspid aortic valves. *Am J Cardiol* 2006;98:249–53.
37. Lindholt JS, Heickendorff L, Henneberg EW, Fasting H. Serum-elastin-peptides as a predictor of expansion of small abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997;14:12–6.
38. Lindholt JS, Heickendorff L, Vammen S, Fasting H, Henneberg EW. Five-year results of elastin and collagen markers as predictive tools in the management of small abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001;21:235–40.
39. Lindholt JS, Ashton HA, Heickendorff L, Scott RA. Serum elastin peptides in the preoperative evaluation of abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001;22:546–50.
40. Oishi Y, Mizuguchi Y, Miyoshi H, Iuchi A, Nagase N, Oki T. A novel approach to assess aortic stiffness related to changes in aging using a two-dimensional strain imaging. *Echocardiography* 2008;25:941–5.
41. Karatolios K, Wittek A, Nwe TH, Bihari P, Shelke A, Josef D et al. Method for aortic wall strain measurement with three-dimensional ultrasound speckle tracking and fitted finite element analysis. *Ann Thorac Surg* 2013;96:1664–71.
42. Petrini J, Jenner J, Rickenlund A, Eriksson P, Franco-Cereceda A, Caidahl K et al. Elastic properties of the descending aorta in patients with a bicuspid or tricuspid aortic valve and aortic valvular disease. *J Am Soc Echocardiogr* 2014;27:393–404.