

Osservatorio Italiano HCM Felina

Gruppo di Studio Cardiomiopatia Iperτροφica Felina

Lo scopo principale della costituzione dell'Osservatorio è approfondire e validare su ampia scala (studio di "campo" sul territorio italiano), la relazione tra assetto genetico, insorgenza e sviluppo della Cardiomiopatia ipertrofica .

La Cardiomiopatia ipertrofica (CMI o HCM) è una malattia cardiaca primitiva trasmessa geneticamente con modalità autosomica dominante ad alto grado di penetranza in rapporto all'età. Sia nei felini che nell'uomo l'HCM ha espressività variabile, con comparsa delle caratteristiche cliniche ed ecocardiografiche tipiche più frequentemente dopo la completa maturità sessuale.

Per queste sue caratteristiche, nonostante i miglioramenti e gli sforzi diagnostici, esistono ancora oggi importanti controversie riguardanti la sua diagnosi precoce, l' eziologia, la storia naturale ed il trattamento.

Nel Marzo del 2008 è nato l' OSSERVATORIO ITALIANO HCM FELINA che intende coordinare e standardizzare la raccolta dei dati clinici, genetici ed ecocardiografici in Italia con lo scopo di elaborarli e fornire linee guida condivise da medici veterinari , genetisti ed allevatori per la gestione HCM.

L' Osservatorio nasce dalla collaborazione tra:

Gli allevatori Italiani, coordinati dal Maine Coon Club (con il patrocinio di ANFI, Società Felina Ticinese e numerosi altri club di razza), che si impegnano a promuovere lo studio della malattia, a vigilare sul rispetto dell'iter diagnostico e della convenzione concordata con veterinari e genetisti.

Il laboratorio di analisi genetiche molecolari VetoGene, spin.off dell' Università degli Studi di Milano, che esegue i test genetici, li elabora e ha creato un database per gli studi genetici. E' inoltre responsabile della creazione di una banca biologica di sangue che verrà conservata per i prossimi 10 anni e che potrà essere condivisa da networks internazionali.

Ecocardiografisti Clinici Universitari e non, coordinati da AVIEC (Ass. Veterinaria Italiana di Ecografia Clinica) che hanno lo scopo di eseguire gli esami ecocardiografici e raccogliere i dati clinici. I dati raccolti vengono inseriti tramite internet in un modulo cardiologico ed inviati in un database interfacciato con Vetogene.

Per aderire all'Osservatorio e quindi usufruire del regime di convenzione, **è obbligatorio che i gatti abbiano il microchip, che siano sottoposti ad ecocardiografia intorno all'anno di età e che il proprietario garantisca il controllo del soggetto dopo 6 o 12 mesi:**

- Dopo 6 mesi se i rilievi ecocardiografici sono dubbi (spessori \geq 5,5 mm o muscoli papillari lievemente ipertrofici) o patologici ($>$ 6 mm con evidente ipertrofia dei muscoli papillari)



Se l' esame ecocardiografico è compatibile con HCM (ipertrofia di qualunque segmento della parete ventricolare sx o del setto interventricolare maggiore o uguale 6,5 mm) viene prelevato un campione di sangue per eseguire creatininemia (Crea), uremia (Bun), ormone T4 al fine di escludere HCM secondaria

- Dopo 12 mesi se i rilievi ecocardiografici sono normali (spessori \leq 5,5 mm)

È possibile eseguire anticipatamente ed in maniera facoltativa un'ecocardiografia (in regime di convenzione) ai 3-6 mesi di età e contestualmente procedere al test genetico.

Rimane comunque obbligatorio eseguire l'ecocardiografia all'anno di età ed il controllo a 6-12 mesi da quest'ultima con relativo prelievo e stoccaggio del sangue.

Se ci sono dubbi di forte familiarità, è **consigliabile effettuare almeno una volta all'anno controlli** periodici ecocardiografici in regime di convenzione. In tal modo l' Osservatorio Italiano HCM sarà in grado di valutare l'eventuale insorgenza piu' tardiva della malattia e raccogliere ulteriori dati clinici ed ecocardiografici

Per diagnosticare (riconoscere) e classificare la gravità dell' HCM, sono stati valutati tramite l'esame "ecocardiografico standard" (linee guida internazionali) gli spessori diastolici in b-mode e m-mode di qualunque segmento della parete ventricolare sx o del setto interventricolare.

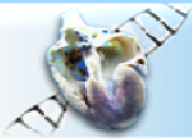
TABELLA RIASSUNTIVA CLASSIFICAZIONE HCM

Spessori ventricolari sx diastolici fino 5,5 mm	HCM : assente	controllo fra 12 mesi
Spessori ventricolari sx diastolici 5,5 a 6,0 mm	HCM : border line	controllo dopo 6 mesi
Spessori ventricolari sx diastolici 6,0 a 6,5 mm	HCM : lieve	controllo dopo 6 mesi
Spessori ventricolari sx diastolici 6,5 a 7,0 mm	HCM : moderata	controllo dopo 6 mesi

Obbligatorio controllo ematologico per escludere HCM secondaria T4 crea e urea

Spessori ventricolari sx diastolici **> 7,0 mm** o associata ad altri segni ecocardiografici * HCM : grave

- ingrandimento striale sx
- sam e/o ostruzione del tratto di efflusso
- grave ipertrofia dei muscoli papillari
- obliterazione sistolica ventricolare sx
- smoke striale o trombi atriali



Attualmente sono registrati presso l'Osservatorio **181** gatti appartenenti alle seguenti razze

Maine Coon
Ragdoll
Norvegese d.f.
Persiano
Siberian
Sphynx
British shorthair
Gatto di casa
Devon Rex

Questi soggetti sono stati tutti sottoposti ad un controllo ecografico secondo le linee guida sopra esposte. I veterinari hanno provveduto all'inserimento del **microchip** se non già presente, alla compilazione di un **modulo on-line di segnalamento** che assegna automaticamente un numero identificativo al gatto, di una **cartella clinica** e hanno proceduto ad un **prelievo di sangue**, che hanno inviato al laboratorio d'analisi congiuntamente al modulo di segnalamento.

Al laboratorio il sangue dei soggetti appartenenti alle razze Maine Coon e Ragdoll viene sottoposto a test genetico specifico per la razza e poi inserito nella banca biologica, mentre il sangue di gatti di altre razze viene inserito direttamente nella **banca biologica**.

Dei 181 soggetti attualmente registrati in Osservatorio:

Classe	%	Motivo
Ecografia, test genetico e deposito del campione biologico	55%	Maine Coon e Ragdoll
Ecografia, test genetico e deposito del campione biologico	10%	Maine Coon e Ragdoll da sistemare, dati non ancora analizzati
Test genetico e deposito del campione biologico (ecografia da fare)	10%	Soggetti età < 6 mesi
Ecografia e deposito del campione biologico	15%	Appartiene a razze diverse da Maine Coon e Ragdoll
Varie	10%	Inserimento dati incompleto

Il test genetico prevede l'estrazione di DNA genomico, l'amplificazione in PCR e il **sequenziamento** di un tratto del gene MYBPC3 circostante la mutazione causativa G91C pubblicata su Human Molecular Genetics nel 2005 da K.Meurs della Washington State University, nel Maine Coon, e la mutazione C2161T (sempre su MYBPC3) pubblicata sempre da K.Meurs nel 2007 su Genomics, nel Ragdoll.

Il sequenziamento (cioè la lettura delle singole basi che costituiscono il DNA) è tecnica "gold standard" per l'identificazione di questa mutazione. Altri tipi di tecniche, quali la tecnica Taq man, pur essendo più economiche e rapide, danno molto più facilmente risultati falsi positivi e falsi negativi, come ha illustrato la Dr.ssa Meurs in un recente Convegno.



Nel 2007 a un congresso, autori danesi hanno proposto una seconda mutazione causativa sempre nel gene MYBPC3 per la razza Maine Coon. In 22 degli 83 casi di Maine Coon di cui è disponibile il test "Meurs" e l'ecografia, abbiamo analizzato il genotipo ottenuto a questa seconda mutazione. In questi casi si sono riscontrati livelli di incongruenza tra test genetico ed ecografia, molto maggiori rispetto a quelli registrati tra mutazione Meurs ed ecografia (quest'ultimo punto verrà analizzato più avanti). **La tipizzazione per questa seconda mutazione è al momento attuale assolutamente da sconsigliare**, non ne è stato provato fin'ora alcun valore diagnostico.

I Ragdoll che hanno aderito all'Osservatorio sono tutti sani ed N/N.

Per quanto riguarda i Maine Coon si sono riscontrate le seguenti frequenze genotipiche:

N/N	P/N	P/P
64%	28%	8%

Questi dati indicano che oltre **1 gatto su 3 trasmette almeno 1 allele - malattia**. E' una percentuale molto alta, sovrapponibile a quella segnalata negli USA, alla fine ci sono considerazioni a questo proposito.

Confrontando i risultati ecografici e quelli genetici si è riscontrata una **mancata concordanza nel 35% dei casi**. Tale discordanza è prevalentemente presente nei soggetti eterozigoti P/N, mentre decresce nei P/P e negli N/N.

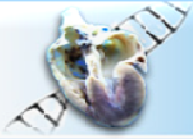
La discordanza negli N/N, cioè la presenza di ipertrofia cardiaca in soggetti N/N apre la porta a varie ipotesi quali: altri geni coinvolti, effetti epigenetici, zone d'ombra per situazioni border-line. Un'ulteriore ipotesi che abbiamo deciso come Laboratorio di vagliare è di **controllare (gratuitamente) questi soggetti per la mutazione del Ragdoll**, in quanto ci risulta da comunicazioni personali con la Dr.ssa Meurs, che non sono infrequenti soggetti Maine Coon positivi per questa mutazione negli Stati Uniti.

La discordanza nei **P/P**, cioè l'assenza di ipertrofia cardiaca in soggetti omozigoti per la mutazione causativa di HCM, è invece da leggersi con la relativamente giovane età media dei soggetti fin'ora iscritti in Osservatorio. Infatti **quando l'ecografia viene condotta in età più avanzata questa discrepanza col test genetico non si riscontra**.

Analogo discorso può essere fatto per i soggetti P/N. In questi soggetti lo sviluppo dell'ipertrofia cardiaca è significativamente più lento che nei P/P. Un fattore che abbiamo in progetto di valutare è il peso dell'animale all'ecografia, per capire se l'aumento di peso, o l'appartenenza a linee particolarmente pesanti, sia fattore predisponente.

Controlli anche biennali dei soggetti P/N, se verranno effettuati, potranno consentire di definire delle curve di sviluppo della malattia ed evidenziare se effettivamente esistano soggetti o linee di sangue che non la sviluppano

A questo proposito, e considerando la prevalenza di soggetti positivi oltre il 30%, mi sento di caldeggiare l'eliminazione senza indugio dalla riproduzione per ora solo dei soggetti P/P.



I dati in nostro possesso mostrano che la stragrande maggioranza del P/N sviluppa molto lentamente la malattia. La prevalenza nella popolazione di un 36% di potenziali malati (P/N+P/P), sostanzialmente la stessa registrata negli Stati Uniti, mette a rischio la razza se l'associazione non impone **un'eradicazione "soft"**. In considerazione del fatto che molti P/N hanno probabilmente buone possibilità di morire per cause diverse da HCM, la castrazione simultanea di questi soggetti (1/3 della popolazione da noi esaminata) porterebbe alla riduzione drastica dei riproduttori e all'impoverimento del pool genetico.

Un'eliminazione progressiva con castrazione di P/P e accoppiamenti mirati dei P/N di maggior pregio, almeno per ora, può portare, nel giro di pochissime generazioni, alla drastica diminuzione degli eterozigoti tra i riproduttori ed alla possibilità di introdurre a breve misure più restrittive che prevedano la castrazione dei P/N. Ma **il pool fenotipico (e genotipico) sarà stato in gran parte salvaguardato.**

L'osservatorio in pochi mesi ha raggiunto diversi obiettivi assai ambiziosi:

- **ha creato per la prima volta un serio rapporto di collaborazione scientifica e pratica tra allevatori, ricerca-Università, veterinari operanti sul territorio**
- **ha fornito dati di prevalenza del problema in Italia**
- **Ha chiarito alcuni dubbi sull'opportunità di alcune genotipizzazioni**
- **Ha confermato un'evoluzione della patologia a diverso grado in relazione al genotipo**
- **Ha fornito indicazioni di tipo selettivo su base scientifica che starà poi agli allevatori e alle loro associazioni decidere se e come recepire, senza che nulla sia imposto, ma sempre in un'intento di massima comprensione e collaborazione, non disgiunto tuttavia dalla serietà professionale**
- **Ha iniziato a creare una banca dati e biologica che dovrà essere ampliata, ma che è il core iniziale di una banca genetica italiana del gatto che potrà in futuro essere un patrimonio per i proprietari, le associazioni e la ricerca.**

Relazione a cura di:

Prof.ssa Maria Longeri (Vetogene)

Dott. Paolo Ferrari (AVIEC)