



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

RUOLO DELLA BIOPSIA ENDOMIOCARDICA NEL
MIGLIORAMENTO DELLA PERFORMANCE
DIAGNOSTICA DEI TASK FORCE CRITERIA (TFC)
NELLA DIAGNOSI DI CARDIOMIOPATIA
ARITMOGENA (ACM)

Relatore: Chiar.mo
**Prof. Antonio Dello
Russo**

Tesi di Laurea di:
Di Cosmo Flavia

Correlatore:
Chiar.mo
Prof.ssa Michela

A.A. 2019/2020

Sommario

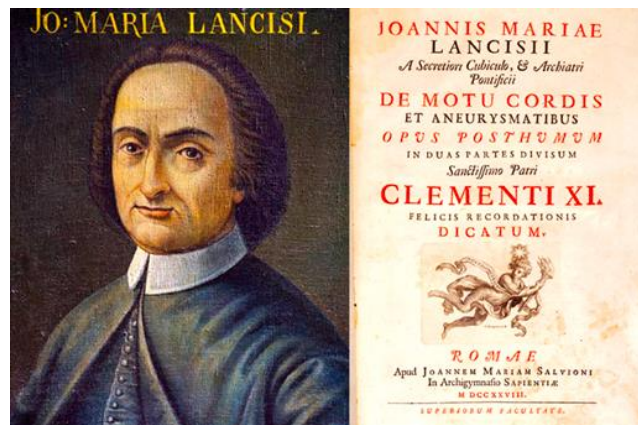
1. INTRODUZIONE.....	4
2.EPIDEMIOLOGIA	6
3. EZIOPATOGENESI.....	7
3.1 <i>STORIA CLINICA</i>	8
3.2 <i>EZIOLOGIA</i>	8
Proteine desmosomiali	9
Proteina non desmosomiali	10
3.3 <i>PATOGENESI</i>	11
Teoria infiammatoria	12
Teoria degenerativa	13
Geni modificatori e fattori ambientali	15
3.4 <i>FENOTIPO DI MALATTIA</i>	16
Forma Classica	16
Forma a Dominanza sinistra.....	17
Forma biventricolare.....	19
4.CLINICA	19
5.DIAGNOSI	21
5.1 <i>ALTERAZIONI MORFOLOGICHE E STRUTTURALI</i>	22
5.2 <i>CARATTERIZZAZIONE TISSUTALE DELLA PARETE</i>	24
5.3 <i>ALTERAZIONI DELL'ATTIVITÀ ELETTRICA</i>	28
5.4 <i>STORIA FAMILIARE</i>	30
Test genetico.....	30
5.5 <i>DIAGNOSI DIFFERENZIALE</i>	31
6.PROGNOSI E MANAGEMENT	33
6.1 <i>STILE DI VITA</i>	33
6.2 <i>TERAPIA FARMACOLOGICA</i>	33
6.3 <i>STRATIFICAZIONE DEL RISCHIO E ICD</i>	34
6.4 <i>ABLAZIONE TRANSCATETERE</i>	35
6.5 <i>CHIRURGIA</i>	36

7.OBIETTIVI DELLO STUDIO	36
8.MATERIALI E METODI	36
<i>8.1 PROCEDURE NON INVASIVE.....</i>	<i>37</i>
Inquadramento generale	37
Valutazione RM.....	37
<i>8.2 PROCEDURE INVASIVE</i>	<i>39</i>
Studio elettrofisiologico di induzione	39
Mappaggio elettroanatomico (EVM)	40
Biopsia endomiocardica.....	41
Valutazione genica.....	42
Analisi statistica.....	43
9.RISULTATI	43
<i>9.1 CARATTERISTICHE DI BASE DELLA POPOLAZIONE.....</i>	<i>43</i>
<i>9.2 CARATTERISTICHE ELETTROCARDIOGRAFICHE</i>	<i>45</i>
<i>9.3 ALTERAZIONI STRUTTURALI.....</i>	<i>45</i>
<i>9.4 VALUTAZIONE DA SFORZO E ISCHEMICA</i>	<i>47</i>
<i>9.5 SEF.....</i>	<i>47</i>
<i>9.6 EVM.....</i>	<i>47</i>
<i>9.7 EMB.....</i>	<i>48</i>
<i>9.8 TEST GENETICO</i>	<i>48</i>
<i>9.9 DIAGNOSI DEFINITIVA.....</i>	<i>49</i>
Analisi della diagnosi secondo TFC.....	50
10.DISCUSSIONE	54
<i>10.1 EVM UNIPOLARE E BIPOLARE.....</i>	<i>57</i>
<i>10.2 COMPLICANZE.....</i>	<i>58</i>
<i>10.3 LIMITI.....</i>	<i>58</i>
11.CONCLUSIONI	59
12.BIBLIOGRAFIA	59

1. INTRODUZIONE

La cardiomiopatia aritmogena (o ACM, dall'inglese *Arrhythmogenic Cardio Myopathy*) è una patologia primitiva del miocardio caratterizzata dalla presenza di alterazioni funzionali e strutturali (atrofia miocardica progressiva con perdita dei miociti e sostituzione fibro-adiposa) di uno o di entrambi i ventricoli, con instabilità elettrica e aritmie ipercinetiche ventricolari, anche maggiori, a rischio di morte cardiaca improvvisa¹.

La scoperta dell'ACM risale al XVIII secolo, quando il dottor Lancisi riportò il caso di una famiglia che in modo ricorrente, nel corso di quattro generazioni, aveva presentato palpitazioni, scompenso cardiaco e morte cardiaca improvvisa e le cui



autopsie avevano rivelato dilatazioni e aneurismi del ventricolo destro (VD). Lancisi, ricostruendo l'albero

Figura 1 (Sinistra) Ritratto di Giovanni Maria Lancisi (Palazzo Bo, Padova). (Destra) Copertina del suo saggio *De motu cordis et aneurysmatibus*. Roma, G.M. Salvioni, 1728.

genealogico della famiglia, rivelò il carattere autosomico dominante della trasmissione e, quasi in modo visionario, affermò al termine del trattato: “è probabile che ciò che io ho finora osservato solo nelle cavità cardiache destre possa anche verificarsi in altri canali del sangue”², anticipando in qualche modo quello che si sarebbe scoperto solo secoli più tardi.

Nel 1819, René Laennec, pubblicò “De l’auscultation mediate”, trattato sulle malattie del torace e sulla sua auscultazione mediante fonendoscopio, nel quale notò “[...] diversi esempi di eccesso di tessuto adiposo nel cuore [...] più tessuto adiposo vi è, più sottili [...] sono le pareti cardiache. A volte sono estremamente sottili, quasi ridotte al nulla, soprattutto all’apice cardiaco e nella parete posteriore del ventricolo destro”.⁵ Già nell'Ottocento veniva dunque descritto il “triangolo della displasia”.

Successivamente William Osler, nel suo trattato “The principles and practice of Medicine” del 1905, parlò dell’assottigliamento papiraceo del cuore di un uomo di 40 anni morto improvvisamente risalendo una collina ripida.

Negli anni Sessanta del Novecento, presso Padova, Dalla Volta descrisse per la prima volta le caratteristiche emodinamiche della ACM, denominandola “Auricularizzazione della curva pressoria del ventricolo destro”, conseguente alla perdita della capacità contrattile del ventricolo destro, il quale appariva

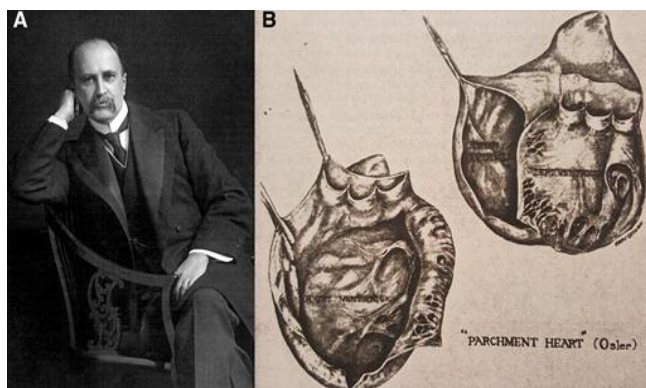


Figura 2 (A) William Osler. (B) Disegno del ‘Parchment heart’ di Osler con assottigliamento a pergamena delle pareti ventricolari, riportato da Segall nel 1950 ⁶

quasi totalmente sostituito da tessuto fibro-adiposo in presenza di coronarie normali.³ Interpretato dapprima come estesa fibrosi post-infartuale, solo più tardi si riconobbe la natura miocardica primitiva della malattia.^{3,4}

Nel 1970 Vito Terribile Wiel Marin, anatomo-patologo presso l’Università di Padova, descrisse nel referto di un’autopsia di una donna di 43 anni con storia di palpitazioni e scompenso cardiaco congestizio, morta per embolia polmonare,

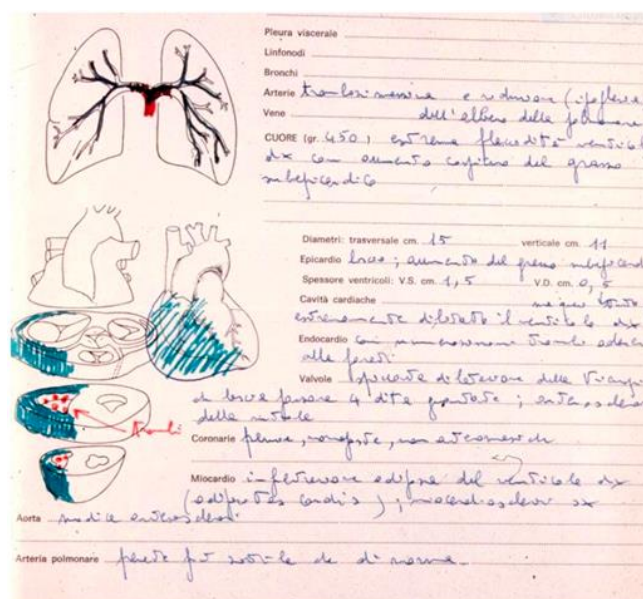


Figura 3 Referto autoptico e disegni di un caso di cardiomiopatia aritmogena in un paziente morto nel 1970 di embolia polmonare con adipositas cordis nel VD e foci di sclerosi miocardica nel VS.⁶

un’importante dilatazione cardiaca, trombosi murale e *adipositas cordis* del VD, nonché “sclerosi miocardica” del ventricolo sinistro (VS), tutte caratteristiche di quella che oggi chiamiamo cardiomiopatia aritmogena biventricolare.⁶

Fu proprio la scuola di Padova a dare i maggiori contributi alla conoscenza della patologia e a introdurre per prima il termine di “cardiomiopatia”, nomenclatura

accolta nel 1995 dalla Organizzazione Mondiale della Sanità che la classificò come “cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro” (ARVC dall’inglese *Arrhythmogenic Right Ventricle Cardiomyopathy*).⁷

Si superò così la terminologia di “displasia” presentata nel 1982 da Marcus FI, Fontain GH et al, i quali la considerarono un disordine dello sviluppo del ventricolo destro (quasi una variante della Sindrome di Uhl).⁸

Sappiamo oggi che la ACM è in realtà una patologia che ha un ampio spettro di possibili presentazioni, comprese forme biventricolari o prevalentemente della camera sinistra. Tali considerazioni hanno portato all’espressione più esatta e puntuale di “Cardiomiopatia Aritmogena”.

2.EPIDEMIOLOGIA

Si stima che la prevalenza della ACM nella popolazione generale sia tra 1:2000 e 1:5000.¹¹ In seguito alla diffusione endemica che si ebbe nel Nord-Est d’Italia (venne definita “la malattia veneziana”), oggi la ACM è stata studiata in popolazioni di differenti etnie, ma non sono disponibili dati riguardo la sua prevalenza nei diversi paesi.

È noto che affetti maggiormente gli uomini delle donne (con un rapporto di 3:1), nonostante la prevalenza dello stato di portatore sano sia paragonabile nei due sessi, e che si manifesti clinicamente più spesso dopo i 40 anni.^{9,10} Più raramente i sintomi e i segni si possono presentare prima della pubertà o in età avanzata, fascia di età nella quale la patologia viene spesso misconosciuta.

Come accennato, è un’importante causa di morte cardiaca improvvisa nei giovani atleti (<35 anni), tra i quali è responsabile del 11-22% delle MCI.¹²

3. EZIOPATOGENESI

L'ACM è una cardiomiopatia "strutturale", caratterizzata da distrofia del miocardio ventricolare, il quale viene sostituito da tessuto fibro-adiposo. L'atrofia del miocardio si verifica progressivamente, estendendosi dall'epicardio verso l'endocardio, divenendo solo alla fine transmurale.

L'elemento patognomnico più evidente è la comparsa di aneurismi, singoli o multipli, a

livello del suddetto "triangolo della displasia" (compreso tra il tratto

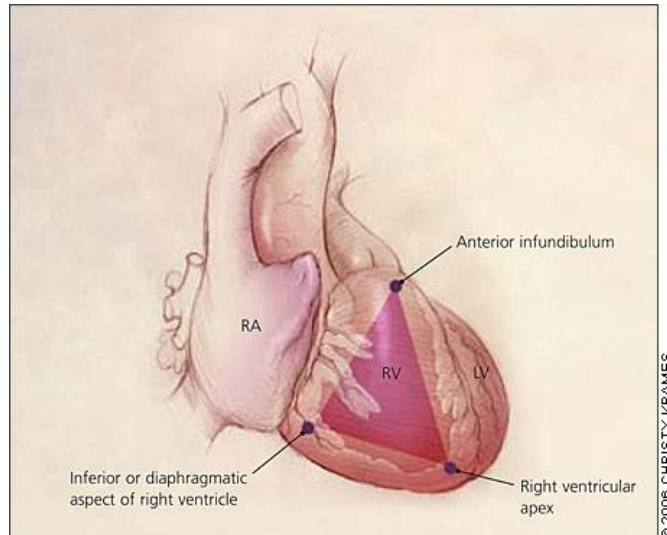


Figura 4 Triangolo della displasia delimitato da: infundibulo, apice del VD e regione diaframmatica

d'efflusso del VD, l'apice e l'anello tricuspidalico).^{13,14}

Nondimeno, sono stati riportati casi in cui solo un attento studio istopatologico ha permesso di rivelare le caratteristiche dell'ACM, in cuori del tutto sani dal punto di vista strutturale. È inoltre noto che non sono rari i casi di coinvolgimento esclusivo (come accade in quasi un quinto dei casi)¹⁵ o predominante del VS.

Infatti, fino al 76% delle autopsie svela un coinvolgimento del VS, solitamente limitato al subepicardio o agli strati intermedi della parete libera postero-laterale.^{13,16}

Cuori negli stadi finali della patologia e in pazienti con scompenso cardiaco congestizio, mostrano spesso aneurismi multipli del VD e una dilatazione estrema delle camere, con un'alta prevalenza di coinvolgimento biventricolare, mentre il setto ventricolare è spesso risparmiato.¹³

Studi anatomo-patologici rivelano isole di miociti sopravvissuti, interposte a tessuto fibroso e adiposo.^{13,17} L'infiltrazione adiposa del VD non è un marker morfologico sufficiente della ACM e la sostituzione fibrosa e i cambiamenti degenerativi dei miociti dovrebbero sempre essere ricercati.^{18,19} La necrosi dei miocardiociti è spesso evidente e può essere associata a infiltrato infiammatorio.^{13,20} L'infiammazione del miocardio è stata infatti riportata nel 75% delle autopsie. Emerge inoltre che

piuttosto che un continuo e costante processo, la progressione potrebbe verificarsi attraverso riacutizzazioni di una patologia altrimenti stabile, come a mimare una miocardite o un infarto del miocardio con coronarie indenni. In un modello animale transgenico per la desmoglobina-2 (dsg2), la necrosi dei miociti è stata dimostrata essere il trigger iniziale del progressivo danno miocardico, seguito da una risposta infiammatoria.²¹ Il rilevamento di genomi virali ha portato ad avanzare l'ipotesi di una eziologia infettiva virale, tuttavia più probabilmente il virus è un innocente bystander o la degenerazione dei miociti costituisce un ambiente favorevole all'insediamento virale.²²

3.1 STORIA CLINICA

Attualmente le fasi evolutive della ACM, indipendentemente dal coinvolgimento destro o sinistro, sono tre²³:

1. Fase non strutturale: non vi sono ancora alterazioni strutturali, ma si rilevano alterazioni microscopiche a carico dei miocardiociti. Sussiste già la possibilità di morte improvvisa.
2. Fase dei "burst" necro-apoptotici: fase simil-infartuale, caratterizzata da morte di miocardiociti e inizio delle alterazioni strutturali macroscopiche.
3. Fase dell'atrofia miocardica: lenta ma progressiva sostituzione fibro-adiposa. Nuovi burst necro-apoptotici possono essere scatenati da fattori ambientali. (es. esercizio fisico intenso).

Tali alterazioni anatomico-strutturali e istologiche sono alla base delle disfunzioni meccaniche ed elettriche tipiche della patologia.

3.2 EZIOLOGIA

La ACM è una patologia ereditaria con trasmissione prevalentemente autosomica dominante.

Si ritiene che alla base vi sia una malattia dei desmosomi, parte di quelle strutture che connettono una cellula miocardica all'altra, noti come dischi intercalari. Questi ultimi sono per l'appunto costituiti da tre elementi: desmosomi e adherens junction, che assicurano un accoppiamento meccanico, e gap junction, che permettono una sincronizzazione elettrica e metabolica tra le cellule. Dalla loro alterazione

conseguono contatti e signalling intercellulari disfunzionali. Oltre a mutazioni in geni codificanti per proteine desmosomiali cardiache (*JUP*, *DSP*, *PKP2*, *DSG2* e *DSC2*), sono state osservate in una minoranza di pazienti mutazioni anche in altri geni (*TGFβ3*, *TMEM43/LUMA*, *DES*, *CTNNA3*, *PLN*, *LMNA*, *TTN*).

La prevalenza è variabile, suggerendo un ruolo aggiuntivo di ulteriori geni o di fattori ambientali (es. infezioni virali, attività fisica). Recenti studi hanno per esempio indicato un ruolo del pathway di signaling Wnt nella patogenesi della ACM.²⁴

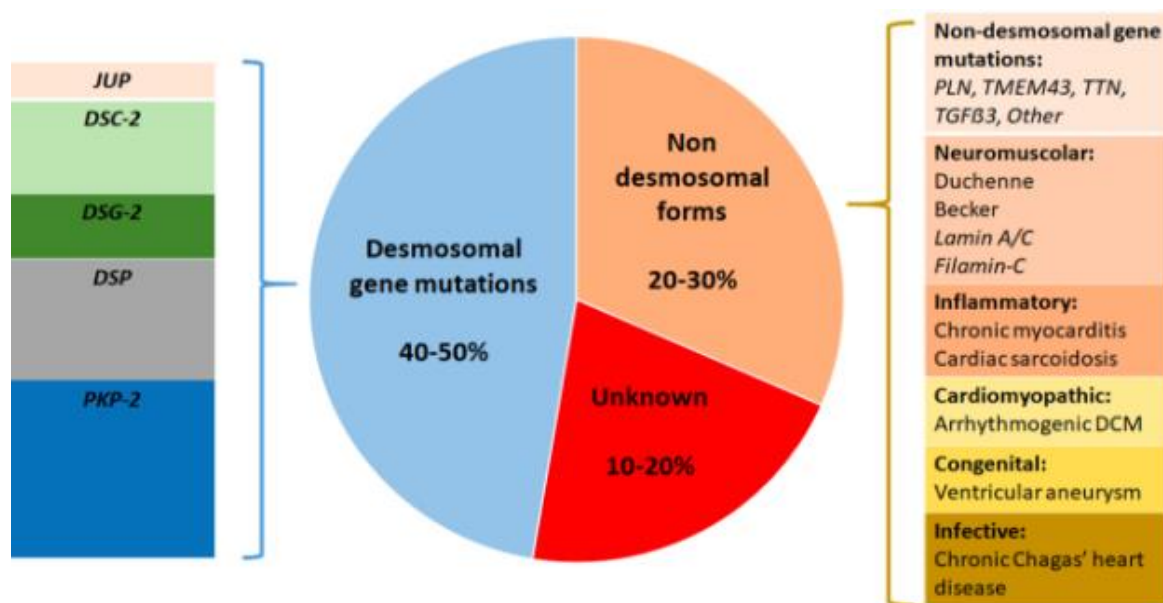


Figura 5 Classificazione eziologica delle cardiomiopatie aritmogene. La causa più comune è rappresentata dai difetti a carico dei geni desmosomiali, ma sono anche altre le possibili cause genetiche e non.¹⁰⁷

Proteine desmosomiali

I desmosomi sono proteine normalmente presenti anche in altri tessuti al di fuori del miocardio, in particolare nei follicoli cutanei e dei capelli. Le loro mutazioni (soprattutto del gene *JUP* codificante per la pakoglobina – proteina desmosomiale) sono anche alla base della malattia di Naxos, rara condizione caratterizzata da ispessimento cutaneo nei palmi delle mani e nella pianta dei piedi, capelli lanosi oltre che da ACM. Un'altra variante di tale patologia è la Sindrome di Carvajal, riscontrata in Ecuador: qui il coinvolgimento cardiaco è biventricolare e la mutazione è a carico del gene *DSP* della Desmoplakina.

Queste furono le prime scoperte nell'ambito della caratterizzazione genica della ACM. Da allora svariati studi ne hanno di gran lunga ampliato il quadro conoscitivo e il loro studio è diventato parte integrante del suo processo diagnostico.

Più di 13 geni sono stati identificati. Circa il 50% delle mutazioni associate a ACM è a carico di uno dei 5 geni codificanti per le tre famiglie di proteine di adesione del desmosoma cardiaco: le proteine armadillo (placoglobina-JUP e placofilina-PKP2, la più frequentemente mutata), le plakine (desmoplachina-DSP) e le caderine (desmogleina-DSG2 e desmocollina-DCS2).

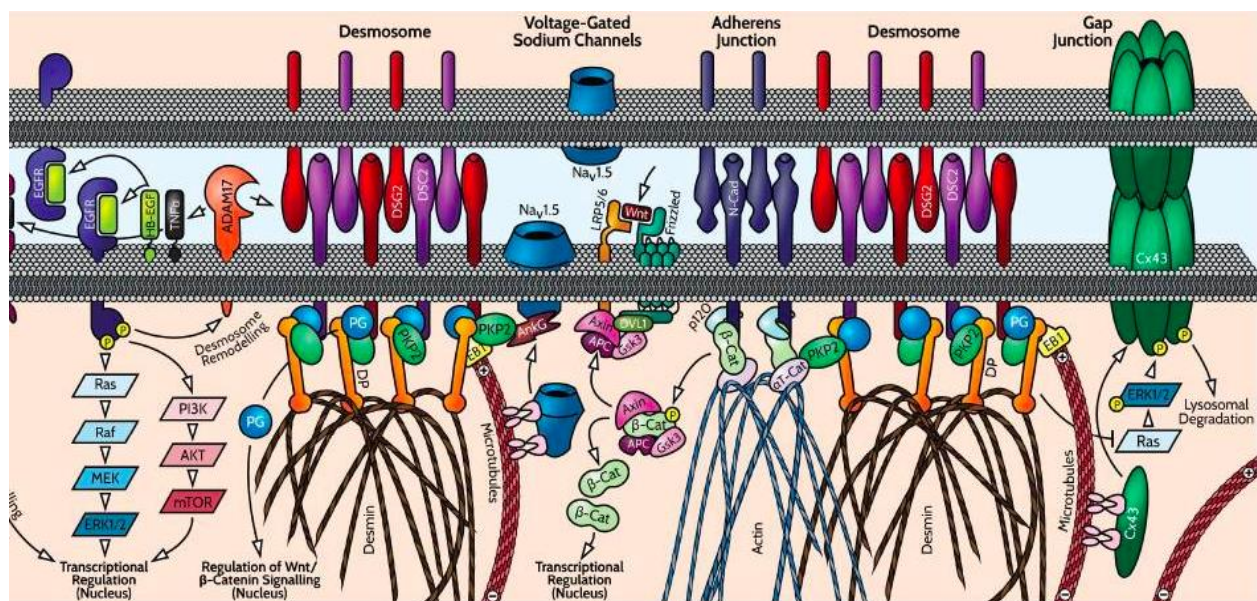


Figura 6 Si mostra uno schema dei dischi intercalari e dell'ipotizzato rimodellamento di desmosomi, gap junction e canali ionici nella ACM. I desmosomi sono distribuiti in prossimità delle adherens junction, gap junction (costituite da connessina) e canali del sodio. Sia desmosomi che giunzioni aderenti hanno nel loro fulcro adesivo molecole appartenenti alla famiglia delle caderine Ca-dipendenti (desmoglobina 2 e desmocollina 2 nei primi, N-caderina nelle seconde). A collegare queste molecole ai filamenti intermedi e al citoscheletro, rispettivamente, troviamo un complesso di proteine armadillo e proteine che connettono al citoscheletro quali placofilina 2, placoglobina e desmoplachina (nei desmosomi) e beta-catenina, p120 catenina e alfaT-Cat (nelle giunzioni aderenti).¹⁰⁴

Proteina non desmosomiali

Report isolati mostrano mutazioni in geni quali TMEM43 (proteina transmembrana 43), DES (desmina), TTN (titina), LMNA (lamina A/C), PLN (fosfolambano) e CTNNA3 (alfaT-catenina), a volte con un fenotipo clinico simile, ma non identico a quello della ACM, considerabili fenocopie o sindromi overlap.^{25,26}

Sono state inoltre riportate mutazioni nella regione regolatrice del gene TGF β , ma il loro ruolo patogenetico è ancora controverso.²⁷

Infine, il recettore 2 per la rianodina è associato a VT polimorfiche catecolaminergiche, piuttosto che alla ACM, come originariamente ipotizzato.²⁸

Observed phenotypes associated with mutations in arrhythmogenic cardiomyopathy-related genes					
Gene	Predominant RV disease	Biventricular disease	Predominant LV disease	Other characteristics	Ref.
JUP	+	+	–	Cardiocutaneous syndrome	4
DSP	–	+	+	Cardiocutaneous syndrome	25
PKP2	+	+	–		6,26
DSG2	+	+	+		8,26
DSC2	+	+	–		9,26
TGFB3	+	Unknown	Unknown		27
TMEM43	+	+	–		28
TTN	+	+	+		19,29
DES	–	+	+		10
Lamin A/C	–	+	+	Conduction disease	11
PLN	–	+	+		16,26
CTNNA3	+	+	–		14
CDH2	+	+	–		13
SCN5A	–	+	+	Electrical > structural disease	1 2,29
FLNC	–	+	+		15
RBM20	Unknown	Unknown	+		30
BAG3	Unknown	Unknown	+		31

Figura 7 Spettro dei fenotipi in relazione all'interessamento ventricolare in pazienti portatori di mutazioni ACM-correlate. La presenza della malattia è contrassegnata con un “+” e l'assenza con un “-”.¹⁰⁴

3.3 PATOGENESI

Nonostante anni di intensa ricerca, la patogenesi della ACM rimane criptica.

Attualmente, oltre alla teoria disontogenetica, sono state avanzate altre teorie tra cui quella infiammatoria, degenerativa, della transdifferenziazione e quella apoptotica.

Teoria infiammatoria

La degenerazione e morte dei miocardiociti e la loro sostituzione fibro-adiposa sono presumibilmente le manifestazioni di un danno del tessuto miocardico seguito da processi riparativi maladattativi. In due terzi dei casi, il tessuto miocardico rivela la presenza di cellule infiammatorie quali linfociti CD43+, CD45R+ e CD3+, nonché di macrofagi CD68+ e neutrofili, a sostegno di questa teoria. L'infiammazione sembra portare a instabilità elettrica, aritmie e ad un quadro clinico che simula una cardiomiopatia dilatativa (DCM).^{32,33}

Recenti report dimostrano inoltre che il microambiente circostante, costituito da chemochine, interazioni intercellulari, specifiche citochine (principalmente le citochine Th1 durante le fasi iniziali della fibrosi, Th2 successivamente nella fase di rimodellamento cardiaco), fattori di crescita e proteine della matrice, è decisivo nel processo di riparazione.³⁸

Per spiegare la patogenesi dell'ACM, i ricercatori hanno proposto in realtà un modello sinergico di degenerazione miocardica e risposta infiammatoria.¹⁰⁵ Come detto, i desmosomi hanno la funzione di resistere allo stress meccanico e di promuovere le interazioni tra i filamenti intermedi e la membrana cellulare, fornendo forza al tessuto, tanto cardiaco quanto cutaneo. Le mutazioni dei geni desmosomiali possono inficiare la funzione dei filamenti intermedi, l'adesione cellula-cellula o entrambe. Di conseguenza la capacità del tessuto cardiaco di resistere allo stress meccanico ad ogni contrazione è compromessa; proprio questo porterebbe a disconnessione intercellulare, necrosi e quindi alla risposta infiammatoria.³⁴ Una volta che la capacità rigenerativa dei mioblasti miocardici si esaurisce, la perdita di miociti è compensata da formazione di tessuto fibroso e adiposo, quindi da un processo riparativo aspecifico. Il VD è più suscettibile a tale disfunzione a causa della sua alta distensibilità; esso si adatta fisiologicamente ad ampie variazioni del precarico, assottigliando le sue pareti. Le interazioni tra i filamenti intermedi è fondamentale nel VS per resistere alla alta pressione sistolica, elemento che lo rende meno vulnerabile (a meno che non vi sia una mutazione a carico della desmoplachina).³⁵

Si ritiene inoltre che la necrosi cellulare sia legata anche all'attivazione del necrosoma, con conseguente rilascio di DAMPs (damage-associated molecular

patterns) da parte dei mitocondri, che vanno ad attivare APC (cellule presentanti l'antigene) quali ad esempio cellule dendritiche.

L'interazione fra alcuni DAMP (vedi NFPs) e i neutrofili stimolerebbe il rilascio di citochine pro-infiammatorie (come IL8) e metalloproteasi.³⁶

Anche il sistema del complemento giocherebbe un ruolo nell'attivazione del sistema immunitario. Il complotipo (geni del sistema del complemento) può essere determinante nell'intensità della risposta infiammatoria.

Tale risposta infiammatoria, ormai ampiamente dimostrata, potrebbe avere come elemento scatenante un'infezione virale: genomi di virus cardiotropici (Enterovirus, Adenovirus, HCV e Parvovirus B19) sono stati rinvenuti nel miocardio di soggetti con ACM.³⁹ È anche possibile che l'agente virale agisca solo come bystander o, ancora più probabilmente, che le stesse alterazioni del miocardio favoriscano in qualche modo l'infezione virale, elemento che, a sua volta, favorisce la progressione della malattia, fermo restando che sono frequenti le diagnosi di miocardite in assenza di genoma virale.

Teoria degenerativa

La teoria degenerativa suggerisce che la ACM sia una conseguenza della morte dei miociti dovuta a difetti ereditari metabolici o ultrastrutturali. In aggiunta ai geni desmosomiali, un altro possibile difetto è stato identificato nel gene dell' α -actina⁴⁰, che condivide omologie strutturali con il dominio ammino-terminale della distrofina. Tale risultato supporta la tesi di un'atrofia geneticamente determinata, similmente a quello che accade in pazienti con distrofia di Duchenne o di Becker, nelle quali si rilevano infatti infiltrati cicatriziali fibro-adiposi, anche in questo caso successivi a necrosi o apoptosi di cellule muscolari. Alcuni studiosi hanno suggerito di considerarla una "distrofia miocardica".⁴¹

Pathway del Wnt

Il desmosoma regola l'espressione di svariati geni. Il pathway cellulare più alterato in seguito a mutazioni desmosomiali è quello del Wnt.²³

Le Wnt sono glicoproteine con funzione autocrina, implicate nei processi di differenziazione e crescita cellulare. Quando il suo segnale è trasdotto, le β -catenine

accumulate nel citoplasma traslocano nel nucleo e si legano a una famiglia di fattori trascrizionali, attivandoli.⁴²

Il pathway è risultato fondamentale anche nei processi di differenziazione degli adipociti⁴³ e nei processi riparativi a livello cardiaco.⁴⁴

Garcia-Gras E. et al hanno dimostrato come la soppressione dell'espressione della DP (desmoplachina) porti alla localizzazione nucleare della placoglobina e a una riduzione del normale signalling Wnt- β catenine. Fenotipicamente questo si traduce in un aumento della lipogenesi e della fibrogenesi. Lo stesso studio rileva come la delezione del DSP (gene della DP) a livello cardiaco, comprometta la morfogenesi cardiaca e porti a letalità embrionale nello stato di omozigote. Topi eterozigoti DP-deficient mostrano un eccesso di adipociti e fibrosi nel miocardio, aumento di apoptosi miocitaria, disfunzione cardiaca e aritmie ventricolari, un quadro analogo a quello della AMC nell'uomo.⁴⁵

Gap junction

Le gap junction risultano fondamentali per la normale propagazione dell'impulso elettrico nel cuore, ma la loro funzione sembra essere in gran parte legata all'accoppiamento meccanico a livello dei dischi intercalari; la stabilità delle prime è cioè strettamente dipendente dalla stabilità dei secondi.⁴⁶ Non a caso, nel momento in cui si verifica una deconnessione tra miocardiociti, le prime connessioni a ripristinarsi sono proprio quelle dei desmosomi e delle adherens junctions.⁴⁷ Inoltre, in topi transgenici, mutazioni che riducono l'espressione delle giunzioni meccaniche causano una significativa riduzione nel numero e nella dimensione delle gap junction, con aumento significativo del rischio di aritmie.⁴⁸

Il rimodellamento delle gap junction nella ACM è stato originariamente descritto in pazienti affetti da sindrome di Naxos; in questi, mutazioni a carico della placoglobina sono state correlate a una ridotta espressione della connessina-43, uno dei costituenti delle GAP junction.⁴⁹ Tali osservazioni, svolte su pazienti con miocardio non strutturalmente alterato, hanno evidenziato la possibile presenza di un rimodellamento delle gap junction già in una fase molto precoce della storia naturale della ACM, antecedente all'esordio della fase degenerativa miocardica e all'accumulo di tessuto fibro-adiposo, fornendo una chiave di lettura a quei casi di ACM in cui le manifestazioni cliniche precedono le alterazioni strutturali.

In molti casi inoltre, il rimodellamento è stato rilevato anche nel VS e nel setto IV, dove si verifica in misura minore la degenerazione fibro-adiposa.⁵⁰

Proteine non giunzionali

Recenti studi hanno dimostrato come altre molecole non direttamente coinvolte nell'accoppiamento intercellulare, risiedono preferenzialmente all'interno dei dischi intercalari. Tra questi la subunità maggiore alfa del canale del sodio voltaggio-dipendente cardiaco noto come Nav1.5.⁵² Sato et al hanno dimostrato che la proteina PKP2 (placofilina-2), componente essenziale del desmosoma cardiaco, è associata al canale del sodio Nav1.5 e che l'espressione della PKP2 altera le correnti di sodio, nonché la velocità della propagazione del potenziale d'azione in colture di miocardiociti.⁵¹

Desmosomi, giunzioni gap e canali al sodio sono in conclusione tre entità fortemente interdipendenti; cambiamenti a carico dell'uno si ripercuotono sull'integrità e il funzionamento degli altri, ponendo le basi per lo sviluppo dell'ACM.

Geni modificatori e fattori ambientali

Nonostante il gran numero di mutazioni associato alla ACM, queste non possono spiegare interamente l'ampio spettro delle espressioni della patologia, a volte diverse in pazienti con la stessa mutazione o in membri della stessa famiglia (in uno studio il 67% dei membri di una famiglia ha mostrato pattern di coinvolgimento del VS e VD distinti).⁵⁴

Innanzitutto è stata dimostrata una maggiore incidenza delle manifestazioni cliniche nel sesso maschile⁵⁴, che rappresenta ad oggi un fattore di rischio indipendente per eventi avversi dell'ACM.⁵⁴ Non si conosce ancora bene la causa di tale differenza, tuttavia possibili imputati sono fattori ormonali (estradiolo in particolare), nonché il grado di attività fisica svolta dai pazienti.

Un altro dato a conferma del ruolo di fattori esogeni modificatori dell'espressione clinica dell'ACM, è la differenza rilevata nello studio di gemelli monozigoti, nei quali la clinica differisce per sintomi di esordio, alterazioni strutturali e rischio di aritmie.

È sicuramente di primaria importanza, come già accennato, l'attività fisica, in particolare quella di elevata intensità, associata in più di uno studio a una maggior

precocità e severità delle manifestazioni cliniche.^{55,56} È stato per altro dimostrato come in modelli murini knock-out eterozigoti per il gene della pacoglobina, il nuoto giornaliero esacerbi le manifestazioni cliniche della patologia⁵⁸ e come una riduzione del post-carico (tramite diuretici e nitrati) prevenga l'evoluzione della malattia indotta dall'esercizio fisico.⁵⁷ Sembra infatti che, negli sportivi, sia il sovraccarico di flusso provocato dall'aumento della gittata cardiaca a determinare uno stress meccanico persistente sui miocardiociti, accelerandone la necrosi e il conseguente rimodellamento fibro-adiposo.

3.4 FENOTIPO DI MALATTIA

La ACM è meglio conosciuta nella sua Forma Classica dominante destra. La scoperta di altri fenotipi non classici, fatta inizialmente da anatomo-patologi in studi post-mortem, ci permette oggi di individuare tre principali sottotipi di ACM. Si tratta invero di una semplificazione di una realtà molto probabilmente più complessa, caratterizzata da un continuum fenotipico ai cui estremi si collocano i due sottotipi a dominanza destra e sinistra.

Forma Classica⁶⁰

Ha una precoce predilezione per il VD. È sicuramente la forma più frequentemente diagnosticata e la sostituzione fibro-adiposa si verifica in maniera prevalentemente regionale, in particolare nel noto “triangolo della displasia”, dove prevalgono inoltre dilatazioni localizzate, discinesie e/o aneurismi. Raramente è interessato il setto interventricolare.

Nella storia naturale della forma classica di ACM possiamo individuare quattro stadi:

- una iniziale fase latente, in cui lievi o assenti anomalie strutturali mascherano a volte un significativo rischio per MCI,

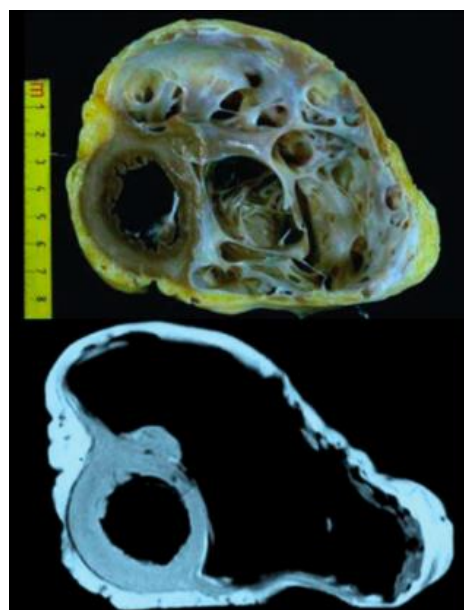


Figura 8 In alto: sezione trasversa di cuore da paziente sottoposta a trapianto cardiaco nel 1996 (precedentemente riportato da Dalla Volta nel 1961): si noti la notevole dilatazione del VD. In basso: RM cardiaca in vitro

particolarmente dopo sforzo intenso.

- fase di instabilità elettrica, che si esplicita in aritmie ventricolari sintomatiche quali blocchi di branca sinistri, confermando la sua origine ventricolare destra. L'ECG mostra inoltre ritardi di conduzione intraventricolare in V1-3, prolungamento dei QRS e onde ϵ , nonché appiattimento o inversione dell'onda T nelle stesse derivazioni. In questa fase le alterazioni strutturali sono visibili agli esami di imaging ma rimangono confinate al VD e sono frequentemente regionali.

- fase di scompenso cardiaco destro; in questo frangente, benché la funzione del VS sia globalmente preservata, possono evidenziarsi alterazioni localizzate.

- fase dello scompenso cardiaco congestizio, come conseguenza del progressivo coinvolgimento del VS.

Sin dal principio della dilatazione ventricolare globale, il rapporto tra il volume ventricolare destro e quello sinistro, studiato tramite la risonanza magnetica (RM), è generalmente >1 e mostra una diretta correlazione con l'età del paziente.⁵⁹

Forma a Dominanza sinistra (LDAC) ⁶⁰

Tale forma è caratterizzata da un precoce e predominante coinvolgimento del VS, nel contesto di una funzione del VD globalmente preservata.

È stata inizialmente studiata nel corso di autopsie su pazienti colpiti da MCI, che presentarono un'atrofia fibro-adiposa prevalentemente localizzata nel terzo esterno dello spessore del miocardio. Rappresenta circa il 5% di tutte le ACM, probabilmente sottostimata, ed è associata a mutazioni dei geni per la desmoplachina. Analogamente e specularmente alla forma classica, l'ECG rileva aritmie ventricolari quali blocchi di branca destri, con asse deviato a sinistra, onde ϵ nelle derivazioni I, II e aVF e/o nelle derivazioni precordiali e onde T invertite/piatte nelle derivazioni (infero)laterali.

La RM con gadolinio è sicuramente l'esame che più precocemente può rilevare una ACM a dominanza sinistra. Il late gadolinium enhancement (LGE) è infatti un indicatore molto sensibile, capace di dare informazioni sul tessuto miocardico, prima ancora che vi siano dilatazioni o disfunzioni del VS. Questo si riconosce tipicamente nello strato subepicardico/medio-murale nel miocardio del VS, in particolare nelle regioni infero-settali e infero-laterali e correla con le zone ad infiltrazione fibro-adiposa riscontrate post-mortem (ricordiamo a questo proposito l'importanza di una diagnosi differenziale con la cardiomiopatia dilatativa per una stratificazione del

rischio e una valutazione familiare corretta: nella cardiomiopatia dilatativa aritmie letali insorgono solitamente in un quadro di una disfunzione ventricolare evidente, con frazione di eiezione <35%, diversamente dalla ACM dove l'instabilità elettrica non corrisponde a tale perdita di funzione. Nella ACM inoltre il coinvolgimento ha carattere molto più regionale che globale. Questi, come altri elementi atti a una diagnosi più efficiente della LDAC, dovrebbero condurre una ulteriore revisione dei Task Force criteria del 2010).²⁹ La sostituzione fibro-adiposa coinvolge infatti inizialmente solo la porzione più esterna della parete ventricolare, che influisce poco sulla contrattilità cardiaca. Di conseguenza, a differenza delle varianti classiche, dilatazioni, aneurismi e discinesie sono meno evidenti e lo studio ecocardiografico è meno informativo. Al contrario, l'interessamento del setto IV è molto caratteristico di questa variante; l'LGE si riscontra nel 50% dei casi di LDAC. Si ricordi che l'LGE è un marker sensibile ma non estremamente specifico, presentandosi in corso di altre patologie (cardiomiopatia dilatativa, sarcoidosi, miocardite). Il rapporto volumetrico tra i due ventricoli rimane <1.

L'evoluzione verso lo scompenso cardiaco è più raro ma è maggiore il rischio di MCI.

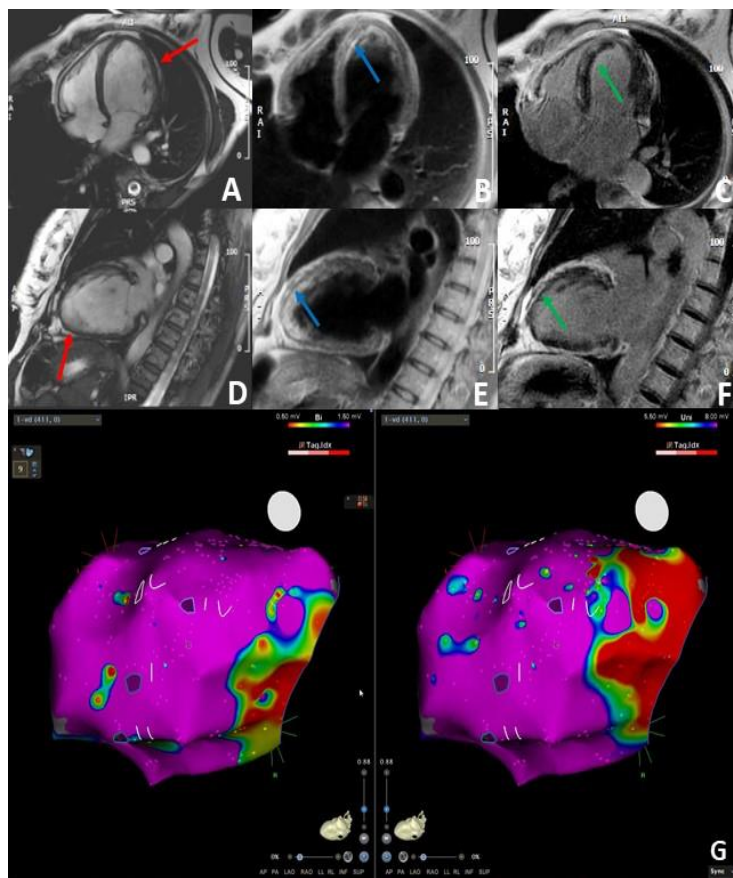


Figura 9 Tipici rilievi in paziente con LDAC. RM (A-F): immagini bSSFP cine (A e D) mostrano cinesi e funzione del VD fisiologiche; nelle immagini bSSFP è facilmente visibile l'infiltrazione adiposa subepicardica della parete laterale del VS (freccie rosse). In B ed E, l'infiltrazione adiposa medio-apicale antero-settale della parete del VS si manifesta come una piccola regione di iperintensità intramiocardica in immagini T1 pesate (freccie blu). Le stesse aree mostrano un segnale di iperintensità nelle immagini LGE dovuto all'infiltrazione fibro-adiposa (freccie verdi in C ed F). Tali rilievi, insieme alla ipo-acinesia della parete postero-laterale del VS sono coerenti con la diagnosi di LDAC. Pannello G: EVM endocardico del VS. Sulla sinistra, la mappa bipolare si presenta completamente normale (viola). Sulla destra, notiamo un'area a basso voltaggio (rosso) presso la parete baso-laterale (mappaggio unipolare). I punti "vuoti" indicano i siti dei prelievi biotipici nella parete posteriore in posizione medio-murale.

Forma biventricolare

Costituisce un 15% dei casi e si caratterizza per un precoce e parallelo coinvolgimento di entrambe le camere cardiache. Nel suo stadio avanzato si evidenziano dilatazione biventricolare e/o disfunzione sistolica. Il quadro clinico presenta generalmente caratteristiche di ambo le forme a dominanza destra e sinistra. Si osservano per l'appunto tanto blocchi di branca sinistri quanto destri e fino a un 15% dei pazienti presenta entrambe le forme di aritmia. Il rapporto tra i volumi delle due camere cardiache rimane vicino a 1.⁵⁹

4.CLINICA⁶³

Considerata la sua prevalenza (1:2000) la ACM è stata inclusa nel novero delle malattie rare; tuttavia essa viene spesso misconosciuta, specialmente nelle sue forme non classiche, e confusa con condizioni quali la cardiomiopatia dilatativa o la miocardite; si pensi alle forme con aritmie senza alterazioni strutturali (che possono seguire anche di anni la clinica) che indirizzano piuttosto a tachiaritmie ventricolari o ectopie ventricolari.^{61,62} Tutto ciò fa pensare che la sua prevalenza sia sottostimata e che siano assolutamente necessari strumenti diagnostici più efficaci.

L'ACM dovrebbe essere sospettata in caso di 1. Cardiopalmo; 2. Presincopi o sincopi presumibilmente di natura aritmica; 3. TV con morfologia di BBS (tachiritmie ventricolari con blocchi di branca sinistri); 4. MCI abortite.

Cardiopalmi e sincopi sono i sintomi più frequenti.⁶⁴ Fino al 25% dei pazienti presenta tachicardie sopraventricolari (TSV), che si presentano in un'età precoce rispetto alla popolazione generale;⁶⁶ si tratta più spesso di fibrillazione atriale, associata maggiormente al sesso maschile, all'età avanzata e alla dilatazione dell'atrio sinistro.⁶⁵

È fondamentale tenerle in considerazione in quanto sono causa di inappropriati shock da parte del defibrillatore impiantabile (ICD) con aumentato rischio di scompenso cardiaco e morte.

Table 1 Clinical profile of arrhythmogenic cardiomyopathy^a (1, 14)

Diagnostic measure	Classic right dominant	Left dominant
12-lead ECG	Normal Poor R-wave progression ^b IVCD in V1–3 Prolongation of QRS duration in V1–3 Incomplete RBBB RBBB Epsilon waves in V1–3 Inverted/flat T-waves in V1–3, extending to V4–6 with LV involvement ST elevation in V1–3	Normal Leftward QRS axis ($-30^\circ < \text{QRS axis} < 0^\circ$) or left axis deviation (QRS axis $< -30^\circ$) Early transition LBBB Epsilon waves in inferior (II, III, aVF) and/or lateral leads (V5–V6 $\pm$ V4, I, aVL) Inverted/flat T-waves in (infero)lateral leads, extending to V1–3 with RV involvement
Signal-averaged ECG	Late potentials	
Arrhythmia	Both supraventricular tachycardia and atrial fibrillation/flutter are observed in arrhythmogenic cardiomyopathy but are not contributory to diagnosis	
	Frequent PVCs of LBBB configuration Sustained/nonsustained VT of LBBB configuration ^c	Frequent PVCs of RBBB configuration Sustained/nonsustained VT or RBBB configuration ^c
Ventricular volumes	Normal Mild, moderate, or severe RV dilation $\pm$ dysfunction	Normal Mild, moderate, or severe LV dilation $\pm$ dysfunction
RV/LV volume ratio	≥ 1.2 , increases with disease progression	< 1 , diminishes with disease progression
Other imaging abnormalities	Localized dilation, WMA, and/or aneurysms in RV, preferentially affecting triangle of dysplasia and mid-free wall Increased/abnormal trabeculation Fat/late enhancement in RV myocardium	Localized dilation, WMA, and/or aneurysms in LV Noncompacted appearance Late enhancement in LV myocardium in a subepicardial/midwall distribution

Figura 9 La TV non sostenuta è definita come tre episodi consecutivi di frequenza cardiaca >120 bpm. La VT sostenuta ha una durata maggiore di 30 secondi.⁵⁵

Non è raro che il primo sintomo della ACM sia la MCI, che alcuni autori stimano arrivare persino al 9% di incidenza annuale; questa sembra verificarsi preferenzialmente durante uno sforzo fisico intenso secondo alcuni studi⁶⁷ e frequentemente anche in stato di riposo secondo altri⁶⁷: Chris Miles et al, ne 2019, hanno rilevato che nel 52% dei pazienti studiati, la MCI si è verificata a riposo o durante il sonno, mentre nel 41% durante l'attività fisica, evento quest'ultimo più frequente nei pazienti <35 anni di età.¹⁵

Un dato molto interessante riportato dallo stesso studio è che il 78% dei pazienti deceduti per ACM non aveva segnalato sintomi prima della morte e che il 93% non aveva ricevuto alcuna diagnosi di patologia cardiaca *ante mortem*.

Scompenso cardiaco destro con dispnea e relativi segni di scompenso destro sono piuttosto rari e riportati in un 6% di pazienti con ACM in fasi iniziali. Se è coinvolto il VS, l'insufficienza cardiaca può verificarsi.

Il dolore toracico viene descritto, con o senza elevazione dinamica del tratto ST/alterazioni dell'onda T e con possibile incremento dei biomarcatori cardiaci.⁶³

5. DIAGNOSI

Dal momento in cui non si dispone di un “gold standard” diagnostico della ACM, è stata proposta una combinazione di varie categorie di informazioni, allo scopo di migliorare la sensibilità dei criteri diagnostici, mantenendone parallelamente la specificità. Tali criteri, stabiliti originariamente nel 1994, sono stati aggiornati nel 2010 e vanno oggi sotto il nome di Task Force Criterias (TFC).

Gli aspetti analizzati sono: 1. Disfunzioni globali o regionali e alterazioni strutturali; 2. Caratterizzazione tissutale della parete 3. Anomalie della ripolarizzazione; 4. Anomalie della depolarizzazione/conduzione; 5. Aritmie; 6. Storia familiare.

Nei nuovi TFC sono stati inclusi ulteriori parametri quantitativi e una migliore definizione delle anomalie; è stato poi inserito come nuovo criterio maggiore l'inversione dell'onda T in V1-V3 e la TV con morfologia di BBS con asse del QRS superiore o indeterminato (sostenute o non sostenute); è stata invece inclusa tra i criteri minori l'inversione dell'onda T in V1-V2, in assenza di BBD e in V1-V4 in presenza di BBD completo. Inoltre, nella storia familiare, la conferma di un caso di ACM in un parente di primo grado e l'identificazione di una mutazione patogenetica (associata o probabilmente associata alla ACM) in un paziente in valutazione, sono ora considerati criteri maggiori. Al contrario l'ipocinesia è stata eliminata dai TFC.

Gli esami richiesti sono dunque: anamnesi ed esame obiettivo; ECG a 12 derivazioni; ecocardiogramma con valutazione dettagliata di entrambe le camere in tutte le proiezioni e con studio Doppler; test da sforzo per lo studio delle aritmie e monitoraggio Holter dell'ECG; RM con gadolinio. In particolari casi sono necessarie procedure più invasive (in primis la biopsia endomiocardica).

La diagnosi di “malattia certa” richiede la presenza di almeno 2 criteri maggiori o 1 criterio maggiore e 3 minori o 4 criteri minori. Si parla di “malattia borderline” in presenza di 1 criterio maggiore e 1 criterio minore oppure tre criteri minori. Viene invece definita “possibile” quando sono presenti solo 1 criterio maggiore o 2 criteri minori.

Questo algoritmo ha una sensibilità diagnostica di circa il 100% e una specificità del 91%. Molto spesso in ogni caso la conferma diagnostica è ottenuta a mezzo di procedure invasive quali la biopsia endomiocardica.^{68,69}

5.1 ALTERAZIONI MORFOLOGICHE E STRUTTURALI

L'ecocardiogramma transtoracico (TTE) è l'esame non invasivo di prima scelta nella valutazione delle alterazioni morfologiche e strutturali, che sono principalmente acinesie, discinesie e aneurismi. Viene anche utilizzato come esame di screening in parenti di pazienti affetti, essendo un esame rapidamente disponibile e informativo. Può dimostrare dilatazione ventricolare o aree multiple di dilatazione e di contrazione anomala, principalmente nella regione sotto-tricuspidalica, del cono di efflusso del VD (RVOT)⁷⁰ (in queste aree l'aneurisma è presente nel 20-50% dei casi)⁷¹. La misura del RVOT è importante nell'inquadramento diagnostico, come emerge dai nuovi TFC. Ovviamente anche il VS può essere affetto, particolarmente nelle varianti non classiche, mostrando ipocinesia e riduzione della FE, anche se in molti casi le anomalie strutturali del VS sono localizzate nella regione posterolaterale.⁷²

L'angiografia del VD è considerato uno strumento molto utile nelle diagnosi della ACM classica. Il suo valore predittivo positivo (VPP) è dell'85% e il suo valore

predittivo negativo (VPN) è del 95%.⁷⁴ Permette un'analisi di qualità della morfologia e della cinesi cardiaca. Presenta però caratteristiche che ne limitano l'utilizzo nella pratica clinica, quali l'irradiazione (che si preferisce evitare soprattutto in giovane età) e la difficoltà di effettuare angiografie seriali in corso di follow up.

Oggi quindi ricopre un ruolo predominante la RM con contrasto, esame ugualmente non invasivo, che riesce tuttavia a ottenere

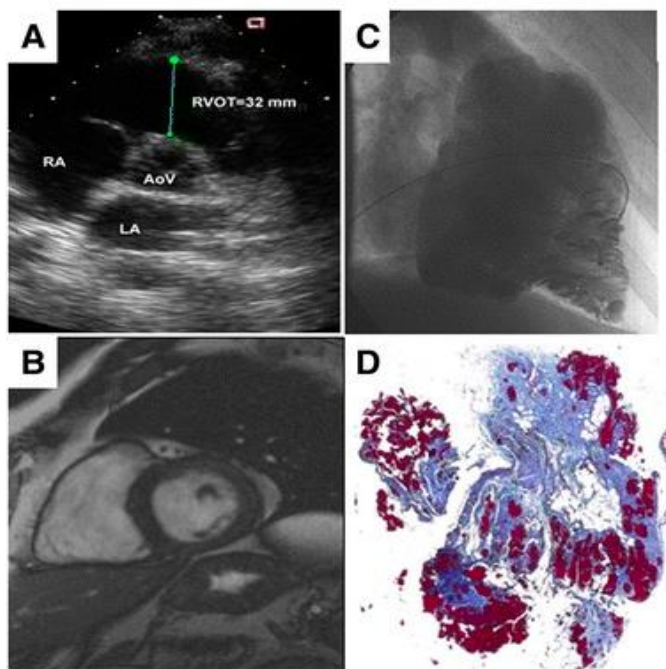


Figura 11 A, B, C: ecocardiografia, RM e angiografia dimostrano dilatazioni del VD e aneurismi. D: caratterizzazione tissutale tramite biopsia endomiocardica.²⁹

un'accurata misurazione dei volumi cardiaci, della massa miocardica, delle funzioni sistoliche e diastoliche ed infine, tramite gli LGE, può rivelare i fenomeni di fibrosi intramiocardica.⁷³ Tale elemento tuttavia, non costituisce ancora un criterio diagnostico a causa della sua limitata specificità, particolarmente in assenza di discinesie, della significativa variabilità intra- e inter-osservatore e della necessità di personale altamente specializzato per una corretta interpretazioni delle immagini.⁷⁴ Un altro importante limite è la mancanza di chiare linee guida che indichino il ruolo diagnostico della RM nelle forme non classiche di ACM. Studi preliminari indicano che, potendo gli LGE evidenziarsi anche in assenza di una disfunzione ventricolare, possono dunque rappresentare un elemento diagnostico precoce, in particolare nelle varianti non classiche. Studi su larga scala sono tuttavia carenti.

I. Global or regional dysfunction and structural alterations* Major By 2D echo Regional RV akinesia, dyskinesia, or aneurysm and 1 of the following (end diastole): • PLAX RVOT ≥ 32 mm (corrected for body size [PLAX/BSA] ≥ 19 mm/m²) • PSAX RVOT ≥ 36 mm (corrected for body size [PSAX/BSA] ≥ 21 mm/m²) • or fractional area change ≤ 33 % By CMR Regional RV akinesia or dyskinesia or dyssynchronous RV contraction and 1 of the following: • Ratio of RV end-diastolic volume to BSA ≥ 110 mL/m² (male) or ≥ 100 mL/m² (female) • or RV ejection fraction ≤ 40 % By RV angiography Regional RV akinesia, dyskinesia, or aneurysm	Minor By 2D echo Regional RV akinesia or dyskinesia and 1 of the following (end diastole): • PLAX RVOT ≥ 29 to < 32 mm (corrected for body size [PLAX/BSA] ≥ 16 to < 19 mm/m²) • PSAX RVOT ≥ 32 to < 36 mm (corrected for body size [PSAX/BSA] ≥ 18 to < 21 mm/m²) • or fractional area change > 33 % to ≤ 40 % By CMR Regional RV akinesia or dyskinesia or dyssynchronous RV contraction and 1 of the following: • Ratio of RV end-diastolic volume to BSA ≥ 100 to < 110 mL/m² (male) or ≥ 90 to < 100 mL/m² (female) • or RV ejection fraction > 40 % to ≤ 45 %
--	---

5.2 CARATTERIZZAZIONE TISSUTALE DELLA PARETE

L'unico esame in grado di permettere una caratterizzazione tissutale è la biopsia endomiocardica, che può essere effettuata in forma di autopsia, di biopsia chirurgica o più frequentemente tramite biotomo endovascolare. Rappresenta difatti un criterio maggiore dei TFC, può confermare la diagnosi in presenza di un sospetto clinico e può escludere potenziali diagnosi differenziali, quali sarcoidosi o malattia di Chagas. Per anni il limite più importante di tale esame è stato il rischio di complicanze (perforazioni e tamponamenti) nel prelievo dei campioni, per ridurre il quale venivano prelevati spesso dal setto del VD. Esso tuttavia è frequentemente risparmiato da processi fibro-adiposi, mentre è più spesso coinvolta la parete libera ventricolare, più sottile e a rischio di perforazione^{75,76}; questo ne ha limitato in modo significativo la sensibilità e quindi il suo utilizzo. Inoltre, essendo tali processi segmentari, sia in superficie, sia nello spessore (si ricordi il coinvolgimento più tardivo dell'endocardio), multipli campioni dovrebbero essere prelevati. La EMB (endomyocardial biopses) guidata dal mappaggio elettroanatomico (EVM: electroanatomic voltage mapping) sembra aver superato gran parte di questi limiti. L'EVM opera una ricostruzione 3D delle camere cardiache e registra un ECG intracardiaco, identificando quelle regioni a basso voltaggio che corrispondono alle aree di alterazione tissutale (come per l'appunto di infiltrazione fibro-adiposa); Dello Russo et al¹¹¹ hanno dimostrato come la EMB guidata da EVM sia uno strumento diagnostico sicuro (nessun paziente nella coorte studiata ha presentato complicanze), affidabile e utile nella ACM (il numero delle diagnosi è aumentato del 13% grazie alla sua esecuzione). Dovrebbe essere eseguita naturalmente in centri specializzati e

II. Tissue characterization of wall

Major

Residual myocytes <60 % by morphometric analysis (or <50 % if estimated), with fibrous replacement of the RV free wall myocardium in ≥ 1 sample, with or without fatty replacement of tissue on EMB

Minor

Residual myocytes <60 % by morphometric analysis (or <50 % if estimated), with fibrous replacement of the RV free wall myocardium in ≥ 1 sample, with or without fatty replacement of tissue on EMB

sempre guidata dall'EVM, al fine di massimizzare il suo potere diagnostico. Da studi retrospettivi emerge come l'EVM e la RM conferiscano insieme alla EMB un valore predittivo positivo dell'89%.¹⁰⁶

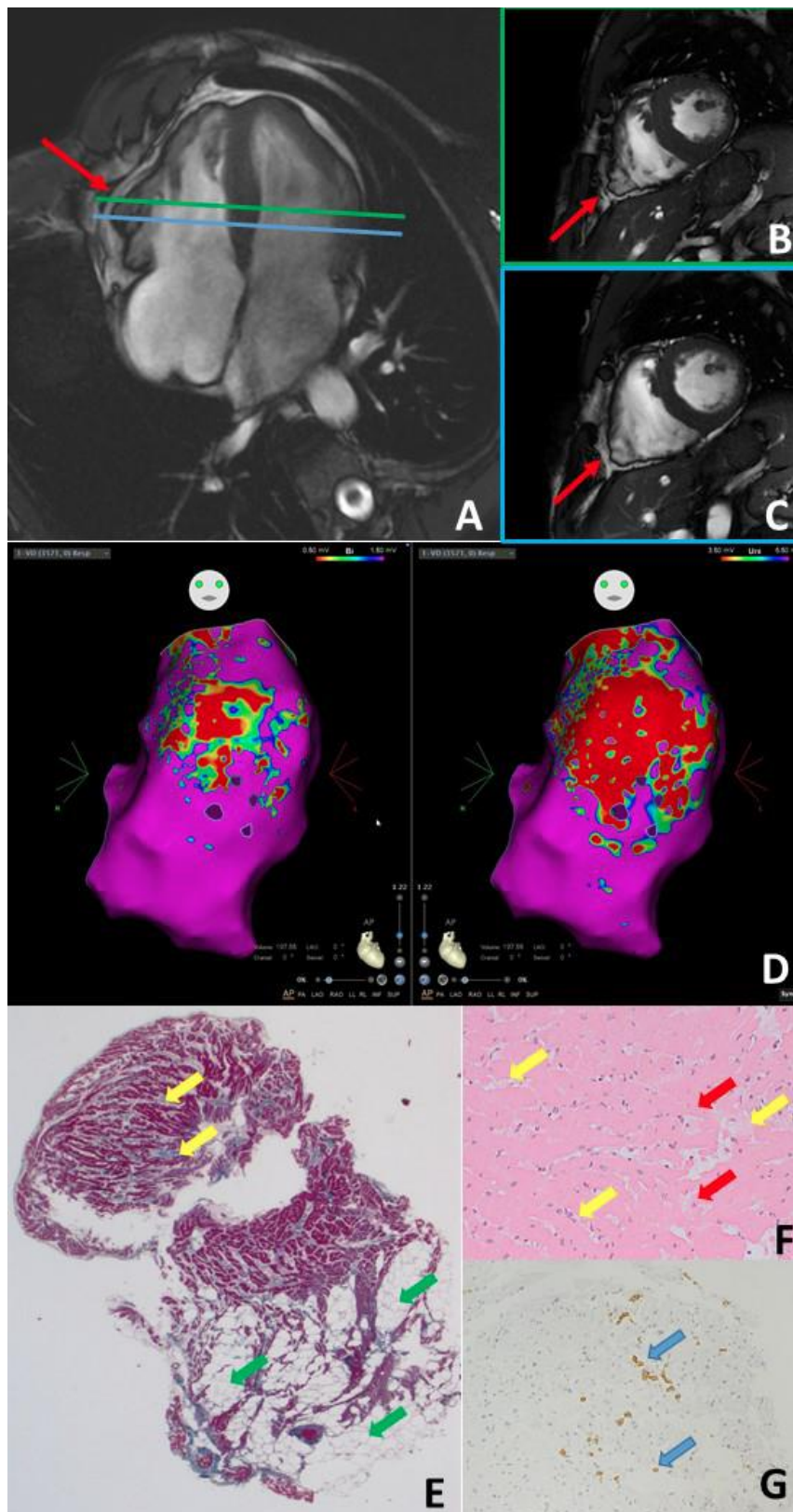


Figura 12 Paziente con sospetta ACM classica riclassificato come ACM con miocardite sovrapposta. RM (pannelli A-C). In A, la proiezione biventricolare 4 camere in asse lungo evidenzia la presenza di bulging sistolico nella parete laterale del VD, confermata nelle proiezioni in asse corto (B e C). La presenza di bulging sistolico insieme alla dilatazione del VD costituisce un criterio maggiore di ACM. EVM endocardico del VD (D): sulla sinistra, si nota un'area a basso voltaggio (rosso) nella parete antero-laterale del tratto di efflusso del VD (mappaggio bipolare); sulla destra, all'analisi unipolare, l'area a basso voltaggio risulta più ampia. I punti "vuoti" indicano i siti dei prelievi biotici nella zona di confine dell'area a basso voltaggio unipolare. Analisi dei prelievi biotici (E-G). La colorazione tricromcia di Masson dei frammenti biotici a ingrandimento 5x (E) mostra un'ampia area di sostituzione fibro-adiposa (frecche verdi) e di fibrosi interstiziale (frecche gialle). Con la colorazione ematossilina e eosina a ingradimento 20x (F) si nota disorganizzazione delle fibre muscolari in assenza di evidente necrosi (frecche rosse) e di fibrosi interstiziale (frecche gialle) con modesto infiltrato infiammatorio. L'analisi immunoistochimica (G) mostra cellule CD3+, segno di processo infiammatorio attivo.

Il tasso di complicanze è molto basso e quando presenti queste sono per lo più legate all'accesso vascolare (fistole artero-venose e pseudo-aneurismi). Alla base di tale dato vi è anche la scelta di eseguire un ecocardiogramma intra-cardiaco (ICE) durante la procedura per visualizzare più direttamente l'area, valutare la morfologia del tessuto (presenza di tessuto cicatriziale, aneurismi, a-discinesie), evitare strutture endocavitarie (valvole, corde tendinee) e monitorare in tempo reale eventuali

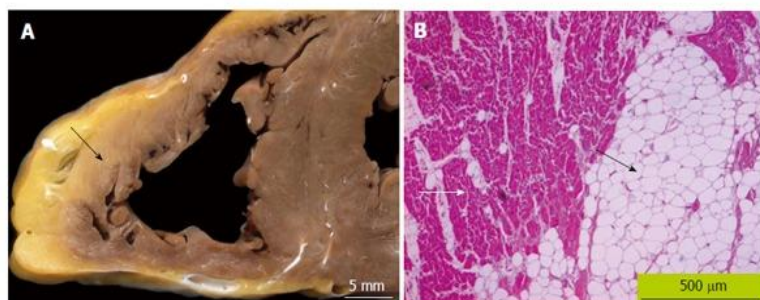


Figura 10 A: reperto macroscopico da paziente con diagnosi di ACM a dominanza destra. Il miocardio della parete libera del VD è parzialmente sostituito da tessuto fibro-adiposo (freccia nera), che tipicamente esordisce nello strato epicardico. B: biopsia endomiocardica da paziente con ACM a dominanza destra che mostra sostituzione adiposa del miocardio del VD (freccia nera). Strati di miocardio sono ancora visibili (freccia bianca, colorazione tricromica di Heidenhain).⁶³

complicanze (come effusioni pericardiche, danni valvolari, trombosi). L'ICE è anche importante per assicurarsi del contatto tra biotomo e parete cardiaca, evitare campionamenti errati e aree eccessivamente sottili, nonché per studiare la correlazione tra le aree di basso

voltaggio registrate con l'EVM e quelle di discinesia e/o fibrosi.⁷⁷

Anche l'utilizzo esclusivo dell'EVM si è dimostrato utile, avendo una buona sensibilità e specificità se confrontato con la RM nella rilevazione di aree patologiche del miocardio;^{78,79} può essere considerato dunque un potenziale sostituto della RM quando questa non sia disponibile, non tollerata dai pazienti o abbia limiti nella sua interpretazione per la presenza di device intracardiaci (ICD). Un altro dato interessante è rappresentato dalla capacità dei due strumenti diagnostici- EVM e RM- di escludere una EMB quando entrambi negativi (a meno che non vi sia un forte sospetto clinico).⁷⁸

Una volta ottenuto il pezzo bioptico, lo studio istologico non si può accontentare della presenza di tessuto adiposo, che di per sé non è diagnostico, ma va a valutare la quantità in percentuale dei miociti residui nei vetrini analizzati.

Un elemento degno di nota è il significativo numero di pazienti che ricevono una diagnosi istologica di ACM con miocardite sovrapposta. La classificazione di questi

pazienti è ancora da stabilire ma si ritiene che possa rappresentare una fase iniziale della patologia o una “hot phase” della ACM caratterizzata da morte miocardiocitaria e infiammazione reattiva.

Questi pazienti hanno un maggior rischio di MCI causata da fibrillazione ventricolare (FV) rispetto ai pazienti in “stable phase”. Considerato il diverso comportamento della malattia, alcuni autori preferiscono includere questi casi in una ulteriore categoria distinta dalla forma classica di ACM.⁷⁸

Si vuole sottolineare infine che né la RM né l'EVM rientrano nei nuovi TFC, pur avendo dimostrato la loro utilità ed essendo routinariamente utilizzati nella pratica clinica. Data l'importanza che rivestono, specialmente in alcune varianti di ACM, una revisione delle linee guida è auspicata anche in tal senso.

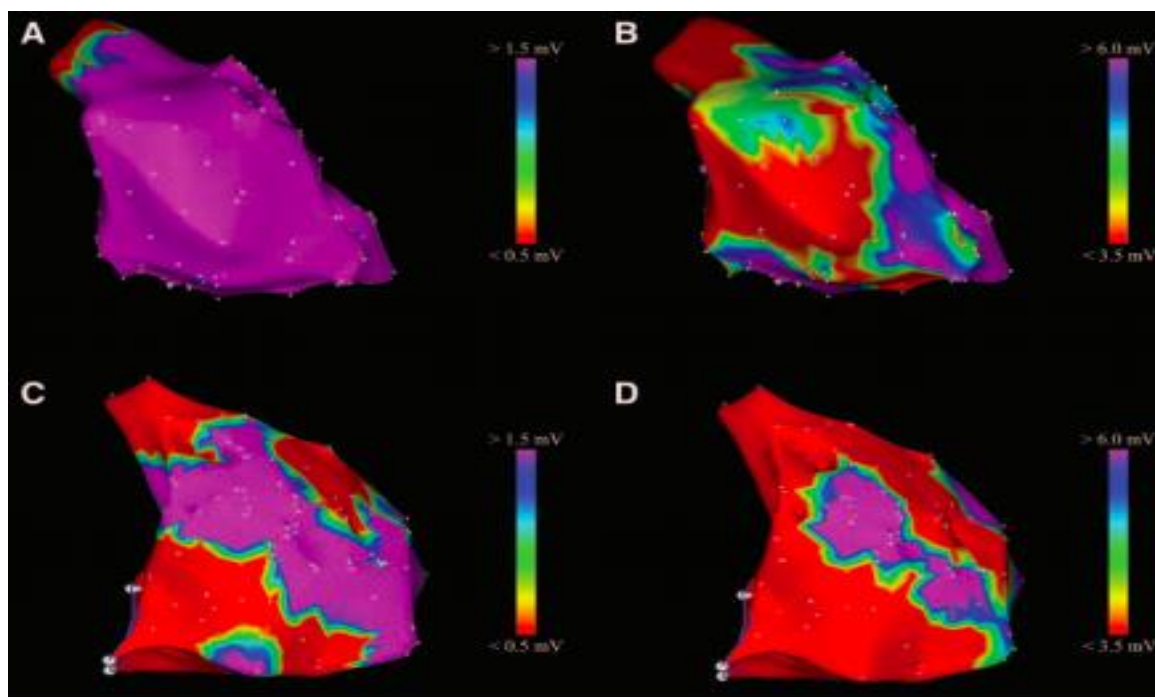


Figura 14 EVM endocardico bipolare e unipolare del VD di due pazienti con ACM. **A**, visione obliqua anteriore destra del VD in EVM bipolare mostrante valori di voltaggi bipolari preservati. **B**, visione obliqua anteriore destra del VD in EVM unipolare nello stesso paziente che svela la presenza di una importante cicatrice elettroanatomica. Confrontato con la visione obliqua anteriore destra del VD in EVM bipolare (**C**), l'EVM unipolare del VD (**D**) rivela una più grande area di basso voltaggio, che coinvolge il tratto d'efflusso del VD e le regioni infero-basale e apicale.

5.3 ALTERAZIONI DELL'ATTIVITÀ ELETTRICA⁶³

Anomalie dell'ECG a 12 derivazioni sono presenti in circa la metà dei pazienti con ACM. Le anomalie includono: onde ϵ , allungamento del QRS in V1-V3 (>110 ms), inversione dell'onda T nelle derivazioni precordiali destre.

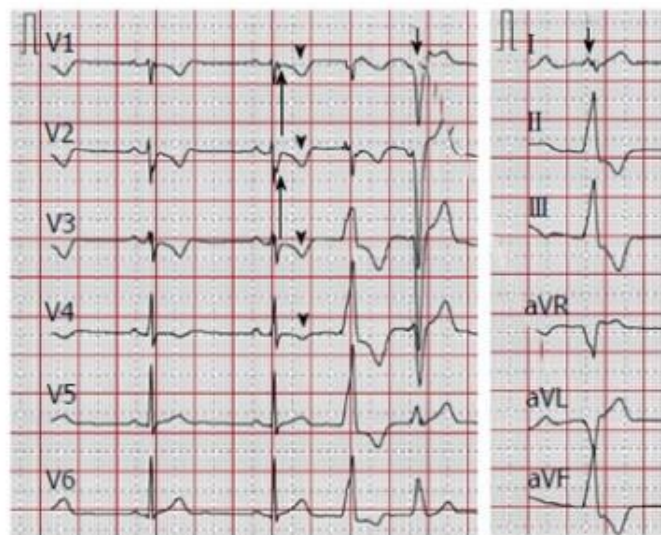


Figura 11 ECG a 12 derivazioni (25mm/s, 10mm/mV): si notano le tipiche anomalie di depolarizzazione (prolungamento della durata di attivazione terminale in V1-V2, criterio minore secondo i TFC del 2010, freccia lunga) e anomalie di ripolarizzazione (inversione dell'onda T in V1-V4 in assenza di un BBD completo, criterio maggiore secondo i TFC del 2010, punte di freccia) e premature contrazioni ventricolari con due differenti morfologie (freccie corte)⁶³

Un prolungamento dell'attività terminale in V1-V3 ≥ 55 ms (misurato dal nadir dell'onda S alla fine del complesso QRS) è considerato un criterio minore.

Tuttavia, i vari reperti elettrocardiografici, fatta eccezione per l'inversione delle onde T, sono soggetti a interpretazioni molto variabili tra un osservatore e l'altro (particolarmente vero per

l'onda ϵ). Parallelamente, il limite dell'inversione dell'onda T è che questa è presente anche in soggetti sani, con precedenti ischemie o ipertrofie del VD.^{80,81}

Sappiamo che l'infiltrazione fibro-adiposa interrompe la continuità elettrica delle fibre miocardiche; ne consegue una frammentazione e a un ritardo della depolarizzazione ventricolare (*zig-zag pathway*), alla base di dati quali la

IV. Depolarization/conduction abnormalities

Major

- Epsilon wave (reproducible low-amplitude signals between end of QRS complex to onset of the T wave) in the right precordial leads (V1 to V3)

Minor

- Late potentials by SAECD in ≥ 1 of 3 parameters in the absence of a QRS duration of ≥ 110 ms on the standard ECG
- Filtered QRS duration (fQRS) ≥ 114 ms
- Duration of terminal QRS < 40 μ V (low-amplitude signal duration) ≥ 38 ms
- Root-mean-square voltage of terminal 40 ms ≤ 20 μ V
- Terminal activation duration of QRS ≥ 55 ms measured from the nadir of the S wave to the end of the QRS, including R', in V1, V2, or V3, in the absence of complete RBBB

frammentazione del QRS, potenziali ventricolari ritardati di bassa ampiezza come l'onda ε o potenziali ritardati registrati tramite il signal-averaged ECG (SAECG).

III. Repolarization abnormalities

Major

- Inverted T waves in right precordial leads (V1, V2, and V3) or beyond in individuals >14 years of age (in the absence of complete RBBB QRS ≥ 120 ms)

Minor

- Inverted T waves in leads V1 and V2 in individuals >14 years of age (in the absence of complete RBBB) or in V4, V5, or V6
- Inverted T waves in leads V1, V2, V3, and V4 in individuals >14 years of age in the presence of complete right RBBB

L'inversione dell'onda T può presentarsi fino alla derivazione V6 se vi è un interessamento concomitante del VS. Costituisce un criterio TFC nei pazienti al di sopra dei 14 anni a causa della sua aspecificità in età inferiori. Rappresenta un criterio maggiore solo in assenza di un completo BBD.

Le aritmie nella ACM variano dalle contrazioni ventricolari premature (PVC) a TV fino alla fibrillazione ventricolare. Più spesso la TV ha una morfologia di BBS, in particolare con asse superiore.

Tuttavia una ACM a dominanza sinistra o biventricolare può presentarsi con TV con morfologia di BBD o entrambi.

Generalmente, la presenza di TV monomorfe è peculiare delle fasi avanzate della patologia.

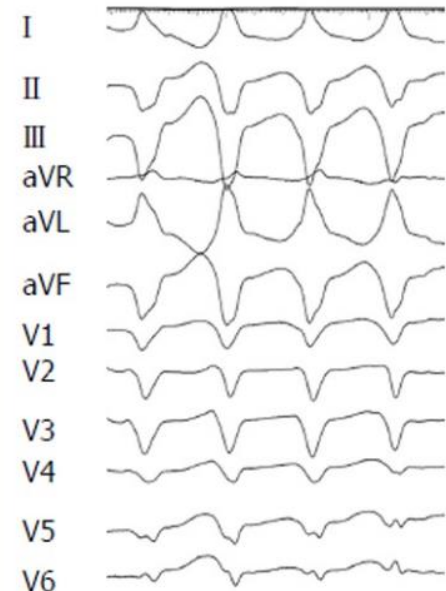


Figura 16 TV sostenuta monomorfa con morfologia di BBS e asse superiore (II,III, aVF negative), criterio maggiore di ACM a dominanza destra (TFC 2010)⁶³

V. Arrhythmias

Major

- Nonsustained or sustained VT of LBBB morphology with superior axis (negative or indeterminate QRS in leads II, III, and aVF and positive in lead aVL)

Minor

- Nonsustained or sustained VT of RVOT configuration, LBBB morphology with inferior axis (positive QRS in leads II, III, and aVF and negative in lead aVL) or of unknown axis
- >500 PVCs per 24 hours (Holter)

Le TV con morfologia di BBS sono annoverate tra i criteri minori dal momento in cui possono essere conseguenze di altre fenocopie di patologia (la più frequenti delle quali è la malattia idiopatica del tratto infundibolare destro RVOT).

Le aritmie possono essere

indotte durante lo studio elettrofisiologico, che, mediante una stimolazione programmata, induce TV, aiutando quindi a distinguere la ACM da altre fenocopie con aritmie non inducibili e allo stesso tempo indicandoci il rischio aritmico del paziente, elemento fondamentale nella scelta del piano terapeutico.

5.4 STORIA FAMILIARE

La presenza di un parente di primo grado in cui sia stata fatta diagnosi di ACM tramite i TFC o tramite autopsia/ chirurgia costituisce un criterio maggiore, così come la presenza di una mutazione patogenetica ACM-associata.

Sono criteri minori: storia di ACM (non confermata dai TFC) e storia di MCI in giovane età nei parenti di primo grado, nonché ACM confermata dall'istologico o dai TFC in parenti di secondo grado.

VI. Family history

Major

- AC confirmed in a first-degree relative who meets current Task Force criteria
- AC confirmed pathologically at autopsy or surgery in a first-degree relative
- Identification of a pathogenic mutation† categorized as associated or probably associated with AC in the patient under evaluation

Minor

- History of AC in a first-degree relative in whom it is not possible or practical to determine whether the family member meets current Task Force criteria
- Premature SD (35 years of age) due to suspected AC in a first-degree relative
- AC confirmed pathologically or by current Task Force Criteria in second-degree relative

Test genetico⁶³

Come noto, la più comune mutazione è a carico di PKP2 e DSP, seguito da DSG2.

Nonostante il fatto che, diversamente da altre cardiomiopatie, nell'ACM la presenza di varianti geniche patogenetiche costituisca un criterio diagnostico maggiore, un test negativo non può escludere una predisposizione genetica, data la possibilità che il fenotipo sia comunque determinato da un gene non ancora noto o che le attuali tecniche di screening molecolare non rilevino tutte le possibili varianti alla base della patologia. Perciò la loro assenza non permette di escludere con certezza la patologia, così come il solo riscontro di mutazioni non permette una diagnosi certa (non a caso il test non è raccomandato se solo un criterio minore viene rispettato).

Inoltre, conseguentemente all'uso routinario del Next Generation Sequencing, l'analisi di un vasto pannello di geni può portare all'identificazione di un alto numero di varianti geniche di significato clinico incerto, varianti geniche associate alla ACM ma presenti anche nella popolazione normale come in altre cardiomiopatie, tanto che la genotipizzazione in pazienti con fenotipo borderline può essere più un elemento confondente che di conferma; da qui la necessità che questi casi siano sottoposti esclusivamente a personale specializzato in genetica molecolare di ACM.

I vantaggi del test consistono dunque nella possibilità di confermare la diagnosi in pazienti con sospetto clinico intermedio-alto, supportare determinate diagnosi differenziali e identificare precocemente parenti affetti portatori di mutazioni patogenetiche, in particolare in caso di patologia silente. È infatti molto adatto come esame di screening in quanto non invasivo e ripetibile in serie.

Lo screening genetico familiare può inoltre essere indicato per stratificare il rischio di aritmia (e quindi guidare la scelta terapeutica). Le attuali linee guida non ne indicano ancora l'utilizzo in tal senso, essendo la correlazione tra particolari mutazioni e rischio di aritmie letali non chiarissima. Tuttavia, recenti studi su larga scala hanno evidenziato un'associazione tra determinati stati mutazionali e l'ACM ad esordio precoce. Alcuni autori hanno infine rilevato come l'eterozigosi composta o digenica di geni desmosomiali alla base della ACM sia predittiva di un outcome aritmico peggiore per un effetto-dose del gene, oltre a spiegare in parte la variabilità fenotipica della malattia.²⁹

5.5 DIAGNOSI DIFFERENZIALE⁶³

Una delle grandi difficoltà nella ACM è distinguerla dalle sue numerose fenocopie di malattia, tra cui annoveriamo anche la condizione fisiologica di "cuore d'atleta", ipertrofia conseguente al sovraccarico prodotto dalla costante attività fisica.

La VT RVOT idiopatica è la patologia non ereditaria che più può essere confusa con la ACM, soprattutto negli stadi iniziali.⁸²

Questa non si associa usualmente ad alterazioni strutturali cardiache ed ha un corso più benigno. Si caratterizza per VT monomorfe ripetitive con aspetto di BBS e asse inferiore, elementi riscontrabili anche in una ACM. Tuttavia la durata del tratto QRS

nella ACM tende ad essere maggiore⁸³, la VT RVOT è difficilmente inducibile in corso di studio elettrofisiologico⁸⁴ e l'EVM mostra voltaggi fisiologici.

Dunque test genetico, storia familiare, EVM ed EMB possono aiutare a differenziare le due entità patologiche.

Un'altra malattia che può mimare l'ACM è la sarcoidosi e gli attuali TFC non offrono chiare istruzioni nella loro differenziazione. La sarcoidosi deve essere considerata specialmente in presenza di sintomi respiratori e sistemici, blocchi atrio-ventricolari di alto grado e in assenza di una storia familiare suggestiva di ACM. Depongono a suo favore elementi quali un precoce coinvolgimento settale, una riduzione della funzione de VS, un ampio QRS durante la VT, VT apicali destre e forme inducibili di VT monomorfe. La diagnosi è usualmente confermata dalla biopsia.⁸⁵

In pazienti con MCI abortite, è bene escludere ischemia del miocardio e anomalie nell'origine delle arterie coronarie.

La DCM è particolarmente difficile da distinguere dalle varianti non classiche di ACM. Cardiopalmo, sincopi e aritmie ventricolari sono spesso presenti negli stadi iniziali della ACM, per lo più in assenza di importanti alterazioni strutturali, diversamente dalla DCM. Allo stesso modo fa protendere verso una ACM la visualizzazione di LGE nella RM, specialmente nella parete postero-basale del VS.⁶¹ Al contrario, il blocco atrioventricolare è più comune nella DCM, ma mutazioni del gene della lamina A/C possono determinare una ACM con difetti di conduzione.⁸⁶

Anche la sindrome di Brugada può mimare una ACM: esse sono accomunate dal ritardo di conduzione nel VD, tanto che recentemente è stata proposto un overlap genetico tra le due entità.^{87,88} È utile sottolineare che importanti alterazioni strutturali sono più comuni nella ACM, mentre mutazioni nel gene SCN5A sono piuttosto rare.

Anomalie della ripolarizzazione possono indirizzare la diagnosi verso una miocardite, che ricordiamo, secondo la teoria infiammatoria, potrebbe essere strettamente correlata nella sua eziopatogenesi alla ACM. In questo caso è particolarmente preziosa la EMB, considerata la difficoltà di distinguere miocardite e ACM sulla base della sola clinica.¹⁰⁶

Altre possibili diagnosi differenziali sono: infarto del VD, ipertensione polmonare, shunt congenito sinistro-destro, malattia di Chagas e malattia di Uhl.

6.PROGNOSI E MANAGEMENT

Il corso della ACM ha una considerevole variabilità interindividuale. Il tasso di mortalità si aggira intorno all'1-3% per anno. In uno studio il 59% dei pazienti è deceduto in seguito a scompenso cardiaco, il 29% per TV¹⁰² e una piccola percentuale per ictus embolico.

Ad oggi nessun trattamento in grado di modificare il corso della patologia è stato chiaramente dimostrato. I vari approcci terapeutici hanno i soli obiettivi di migliorare la qualità di vita, alleviare i sintomi e prevenire eventi rischiosi per la vita (aritmie e MCI).

6.1 STILE DI VITA

Giovani atleti agonisti con ACM hanno un rischio 5.4 volte maggiore di andare incontro a MCI rispetto ai non atleti.⁸⁹ C'è generale consenso sulla necessità di evitare attività fisica intensa in pazienti sintomatici (meno chiaro è il caso dei pazienti asintomatici portatori di mutazioni patogenetiche). A supporto di questo, recenti studi hanno evidenziato un aumento del rischio di TV/FV e scompenso cardiaco in seguito a frequente e intenso esercizio fisico⁹⁰, il quale sembra avere un ruolo anche nell'esordio e nella progressione della patologia.

6.2 TERAPIA FARMACOLOGICA^{60,63}

Come detto, nessun farmaco è in grado di modificare il corso di malattia. Inibitori del sistema renina-angiotensina-aldosterone possono essere somministrati sulla base di evidenze empiriche con lo scopo di rallentare il rimodellamento ventricolare; tuttavia sono carenti trial clinici su larga scala. Il BNP, PCR, IL1beta e TNF alfa sono stati proposti come biomarcatori di attività di malattia, infiammazione e prognosi, ma sono necessarie ulteriori validazioni.⁹¹⁻⁹³

I farmaci antiaritmici hanno un ruolo fondamentale nell'alleviare i sintomi delle aritmie, ne aumentano la soglia e nei pazienti con ICD riducono gli interventi del dispositivo (appropriati e non).

Tra questi, efficaci e sicuri, ricordiamo i β -bloccanti, sotalolo, mexiletine, amiodarone, flecainide e altri antiaritmici di classe 1 e 3.

Hiroi et al suggeriscono che il carvedilolo possa controllare le aritmie e migliorare la funzione del VS in alcuni pazienti con ACM biventricolare¹⁶³, mentre l'uso dei Calcio-antagonisti è aneddótico.

Si ipotizza un'azione modificante il corso della patologia da parte dei β -bloccanti, i quali riducono lo stress meccanico cardiaco.

È preferibile evitare la co-amministrazione di farmaci che potrebbero allungare l'intervallo QT (come sotalolo e amiodarone). Considerata la non trascurabile incidenza di tromboembolismi in tali pazienti, farmaci anticoagulanti sono fortemente raccomandati in presenza fibrillazione atriale, dilatazione ventricolare, discinesie e aneurismi, seppure alcuni studi non lo raccomandano come profilassi in aneurismi del VD.

Sono carenti dati riguardanti le forme non classiche di ACM.

6.3 STRATIFICAZIONE DEL RISCHIO E ICD⁶³

L'ICD nei pazienti con ACM è in molti casi salva-vita e quindi mandatorio come misura di prevenzione secondaria, anche se il tasso di complicanze (emorragie, infezioni del dispositivo, perforazione della tasca, malfunzionamenti e dislocamenti) non è basso.

È dunque fondamentale una corretta stratificazione del rischio: sulla base di studi osservazionali precedenti, Sagun et al propongono tre principali classi di rischio: 1. Alto: in pazienti con MCI abortite, TV e FV sostenute, sincopi di origine aritmica; 2. Moderato: se TV non sostenute, severe anomalie strutturali del VD e/o del VS, presenza di sintomi su base cardiogena, inversione dell'onda T in almeno tre derivazioni, frequenti PVC ed esordio di patologia severa in età <35 anni; 3. Basso: se i pazienti presentano familiari asintomatici e <10 PVC (nell'esame Holter delle 24 ore). Tutto ciò è applicabile in pazienti con ACM a dominanza destra; anche in questo caso i dati sulle varianti non classiche sono carenti. Altri importanti fattori prognostici sono: alterazioni della ripolarizzazione all'ECG, le dimensioni dell'area di cicatrizzazione e di potenziali a basso voltaggio, l'induzione di FV in seguito a stimolazioni programmate, un basso valore di TAPSE (tricuspidal annular plane excursion).⁹⁷⁻⁹⁹

I pazienti con precedente arresto cardiaco da TV o FV sono i più a rischio di recidive aritmiche e MCI.

È certo che i pazienti dovrebbero prestare molta attenzione ai possibili sintomi; parallelamente i clinici dovrebbero guardare a inversioni delle onde T, elevazioni dei segmenti ST e aumenti di biomarker miocardici come possibile espressione di una “hot fase” di malattia. Sono inoltre consigliate valutazioni cliniche periodiche ai parenti di primo e secondo grado sin dall’età giovanile.

Secondo gli ultimi aggiornamenti delle linee guide l’ACC/AHA/HRS 2008, l’impianto dell’ICD è indicato in pazienti con patologia cardiaca strutturale con storia di TV, di MCI abortite (profilassi secondaria, indicazione di classe I) o che presentano almeno un fattore di rischio per MCI (indicazione IIA, livello di evidenza C).^{94,95}

La questione è più complessa per i pazienti con rischio moderato-basso di MCI, nei quali devono essere soppesate da una parte il rischio di aritmie letali e dall’altra le possibili complicanze di un ICD, la probabilità di un impianto inopportuno, il relativo carico psicologico ed economico. Particolarmente a rischio di spostamenti e scariche inappropriate sono i giovani. Una corretta stratificazione del rischio è dunque fondamentale, onde evitare impianti indiscriminati. Un ICD a doppia camera potrebbe essere un mezzo efficace per discriminare VT e SVT da tachicardie sinusali in pazienti giovani. Allo stesso tempo l’uso di antiaritmici può ridurre il numero di interventi inappropriati legati alle SVT, così come l’innalzamento dei cut-off e l’impostazione di intervalli di detezione maggiori.⁹⁶

6.4 ABLAZIONE TRANSCATETERE

Consiste nella folgorazione (applicazione di corrente diretta) dei siti responsabili dell’abnorme attivazione ventricolare nel miocardio. Tali siti nell’ACM sono localizzati principalmente a livello dell’epicardio e dunque non approcciabili con un classico accesso endocardico. La necessità di un approccio epicardico e gli enormi sviluppi dell’EAM hanno fatto sì che oggi quest’ultimo venga ormai sfruttato routinariamente come guida all’ablazione.

L’indicazione a tale procedura è la presenza di TV refrattarie a terapia medica o non controllabili dall’ICD. In determinati pazienti in cui si vogliono evitare gli effetti a lungo termine dei farmaci antiaritmici, l’ablazione transcateretere può essere offerta come terapia di prima linea. Tuttavia, le recidive aritmiche non sono infrequenti: nello studio di Philips B. et al la percentuale di pazienti liberi da VT a 5 anni è del 47%.¹⁰¹

Tale metodica ha il solo obiettivo nella ACM di migliorare la qualità di vita e ridurre la frequenza di episodi di VT e PVC¹⁰⁰, senza riuscire a prevenire la MCI. Non è dunque considerabile un'alternativa all'ICD.

6.5 CHIRURGIA

Solo in caso di scompenso cardiaco severo refrattario a terapia farmacologica o di TV non controllabili, devono essere considerati dispositivi di assistenza ventricolare o trapianto cardiaco, condizione che si verifica raramente se non vi è coinvolgimento del VS. Uno studio afferma che il 7% dei pazienti ACM ricevono un trapianto cardiaco dopo un periodo medio di 10 anni di follow-up, presentando frequentemente un coinvolgimento del VS.¹⁰³

La prognosi è generalmente positiva, considerando la giovane età dei pazienti.

7.OBIETTIVI DELLO STUDIO

L'obiettivo del nostro studio è valutare quanto la biopsia endomiocardica migliori la performance diagnostica dei TFC in una coorte di soggetti con diagnosi di ACM possibile o borderline.

8.MATERIALI E METODI

Abbiamo condotto uno studio osservazionale e retrospettivo: sono stati inclusi 61 pazienti, reclutati sulla base del sospetto di ACM (forme classiche, a dominanza sinistra e biventricolari) in seguito a indagini non invasive, valutati presso l'IRCCS Centro Cardiologico Monzino e presso il reparto di Clinica di Cardiologia e Aritmologia degli Ospedali Riuniti di Ancona.

8.1 PROCEDURE NON INVASIVE

Inquadramento generale

I pazienti sono stati arruolati tra Gennaio 2010 ed Aprile 2020 sulle base dei criteri diagnostici di ACM ottenuti con esami di tipo non invasivo. Abbiamo condotto un inquadramento diagnostico completo, che ha incluso: anamnesi completa personale e familiare; esame obiettivo generale e cardiovascolare; esami ematochimici di routine (esame emocromocitometrico con formula leucocitaria, pannello epatico, pannello coagulativo, pannello renale, pannello lipidico); elettrocardiogramma a 12 derivazioni a riposo; Holter ECG delle 24 ore; ecocardiogramma transtoracico.

Nel caso di un sospetto clinico di coronaropatia ostruttiva, in base alla sintomatologia del paziente, alla presenza di fattori di rischio aterosclerotici ed al tipo di aritmie alla presentazione, i pazienti sono stati sottoposti a tomografia assiale computerizzata coronarica (coro-TC, N=18) o a coronarografia (N=8); 2 soggetti si sono sottoposti sia a coro-TC che a coronarografia.

Valutazione RM

Tutti gli studi RM eseguiti nei nostri centri sono stati effettuati con apparecchi RM da 1.5-T (Discovery MR450, GE-Healthcare, Milwaukee, MN), sfruttando *software* specifici per lo studio del cuore. Abbiamo acquisito immagini di cine-RMN in *breath hold steady-state* con scansioni sia in asse corto che in asse lungo. La valutazione delle masse e dei volumi, così come la verifica della funzione biventricolare, è stata eseguita su scansioni in asse corto. Sono state inoltre utilizzate bobine di ricezione *phased array* e tecniche di sincronizzazione elettrocardiografica. Per escludere l'ACM, sono state acquisite una serie di proiezioni assiali in asse lungo dal diaframma fino al tratto d'efflusso del VD.

I parametri tecnici applicati sono i seguenti: 30 fasi, 10-25 proiezioni per segmento, NEX 1, FOV 40 cm, matrice di 224 x 224, *flip angle* di 60°, TR 3.6-4.2 e TE = TR/2.

Al fine di rilevare infiltrazioni di tessuto adiposo, è stato scelto il metodo FSE/STIR(17). L'*imaging* dell'edema miocardico è stato effettuato tramite tecnica *breath hold black-blood* pesata in T2, con breve tempo di inversione, protocollo

inversion-recovery, immagini *Fast Spin-Echo* pesate in T2 orientate secondo l'asse corto cardiaco con i seguenti parametri: FOV 380-400 mm, TR/TE: 2 R-R intervals/100 ms, TI: 150 ms, matrice 256x192, ST 8 mm e nessun *gap inter-slice*. Sono state acquisite immagini *Fast Spin-Echo* pesate in T1 con tecnica *breath hold* nelle stesse proiezioni con asse corto (8 mm di spessore delle slice, senza gap) e proiezioni ad asse lungo con i seguenti parametri: per FSE NEX 1, FOV 40 cm, matrice di 256x256, intervallo TR 1 RR e TE minimo (range 4.5-7.8 ms). La sequenza *Breath hold, Short TI inversion Recovery (STIR) Spin Echo Pulse* è stata usata nelle stesse proiezioni con asse corto e lungo con i seguenti parametri: NEX 1, FOV 400 mm, intervalli TR 2 R-R, TE 60 ms, TI 150 ms, matrix 256 x 256 e spessore delle scansioni di 8 mm. Al fine di identificare la fibrosi miocardica, è stata eseguita in tutti i casi una sequenza segmentale T1-pesata con protocollo *inversion recovery* e tecnica di *late gadolinium enhancement*; tale sequenza è stata ottenuta dai 10 ai 20 minuti dopo l'iniezione di un bolo intravenoso di 0.1 mmol/kg di gadolinio-BOPTA (Multihance, Bracco, Milano, Italia). L'*inversion recovery time* utilizzato è stato adattato individualmente, allo scopo di sopprimere il segnale miocardico remoto (il range normalmente utilizzato è compreso tra i 220 e i 330 ms). Sono stati utilizzati i seguenti parametri: FOV: 380-420 mm, TR/TE 4.6/1.3 ms, α 20°, matrice di 256x192, ST 8 mm e nessun inter-slice gap.

I contorni epicardico ed endocardico sono stati delineati manualmente e i muscoli papillari sono stati inclusi nella massa miocardica del VS. I volumi del VS, la gittata sistolica, la cinesi regionale e la FE sono stati inoltre quantificati utilizzando la serie di immagini cine in asse corto e in asse lungo e normalizzate per la superficie corporea. Inoltre, lo studio RM ha caratterizzato le anomalie del VD quali dilatazioni, riduzioni della FE, discinesie della parete libera e LGE del VD. L'infiltrazione adiposa del VS è stata definita in base alla presenza di iperintensità di segnale del miocardio nelle sequenze pesate in T1 e/o come regioni di iperintensità delimitate da un sottile contorno ipointenso e circondato da miocardio normale in immagini cine SSFP.

L'LGE è stato definito come iperintensità del miocardio con un'intensità di segnale in accordo con i metodi FWHM quando confrontati al normale miocardio in immagini pesate in T2; l'edema del VS è stato valutato misurando il rapporto tra l'intensità del segnale in differenti segmenti del miocardio e nel muscolo scheletrico (muscoli

grande e piccolo pettorale) e in ogni segmento del miocardio. Un rapporto ≥ 2 è stato considerato anomalo. Tutti gli esami sono stati raccolti e analizzati in modo centralizzato tramite software cardiaci (cvi42, Circle Cardiovascular Imaging, Calgary, Canada) da due cardiologi esperti non a conoscenza dell'anamnesi e delle informazioni riguardanti i pazienti. In caso di disaccordo riguardo l'interpretazione dei dati tra i due specialisti, è stato coinvolto un terzo interprete esperto.

Al termine del processo diagnostico non invasivo, tutti i pazienti hanno ricevuto una diagnosi possibile, borderline o definitiva di ACM conformemente ai criteri della International Task Force aggiornati al 2010 o, in alternativa, diagnosi possibile di ACM a dominanza sinistra o biventricolare (23,0%, n=14/61).

8.2 PROCEDURE INVASIVE

Il protocollo per la valutazione invasiva ha previsto: 1. La preparazione del paziente con posizionamento di accessi venosi (a destra per l'inserimento dei cateteri, a sinistra per l'esecuzione dell'ICE), assistenza anestesiológica a paziente sveglio e monitoraggio pressorio invasivo (tramite arteria radiale); 2. La ricostruzione delle camere ventricolari destra e sinistra tramite l'ICE; 3. La creazione della mappa elettroanatomica tridimensionale; 4. Il prelievo biotico EVM-guidato; 5. Lo studio elettrofisiologico di induzione.

Studio elettrofisiologico di induzione

Abbiamo eseguito una stimolazione ventricolare programmata *standard* da duplice sito (apice del VD e tratto di efflusso), con 2 diversi cicli (600 ms e 400 ms) e fino a 3 extrastimoli, a riposo e durante infusione di isoprotenerolo. Lo studio è risultato positivo quando sono state indotte TV sostenute e/o FV.

Gli intervalli di accoppiamento degli extrastimoli sono stati progressivamente ridotti fino all'induzione di aritmie ventricolari sostenute, al raggiungimento della refrattarietà ventricolare o di un intervallo di accoppiamento minimo di 200 ms.

Mappaggio elettroanatomico (EVM)

Tutte le procedure sono state guidate dall'EVM endocavitario. L'EVM permette di creare una ricostruzione 3D delle camere cardiache integrando informazioni anatomiche con dati dell'attività elettrica cardiaca, i quali vengono sintetizzati in una mappa elettroanatomica. In essa è possibile localizzare aree interessate da processi patologici, in base alla presenza di una riduzione dell'ampiezza dei voltaggi registrati e/o di potenziali frammentati/tardivi.

Sotto la guida dell'ICE 3D, abbiamo acquisito mappaggi sia in configurazione unipolare che bipolare, tanto del ventricolo destro quanto del ventricolo sinistro, tramite il sistema CARTO (Biosense Webster) in corso di ritmo sinusale, grazie ad un catetere con sensore di contatto (CARTO ThermoCool[®] SmartTouch[®] CF contact force-sensing Catheter, Biosense Webster, Diamond Bar, CA).

Una forza di contatto ≥ 5 g è stata considerata adeguata. Il valore di riferimento per identificare il normale voltaggio endocardico bipolare è stato fissato a >1.5 mV. Quello unipolare è stato considerato >5.5 mV nel VD e >8.3 mV nel VS.¹¹³ Nel 10% dei casi, abbiamo eseguito un mappaggio ad alta densità utilizzando un catetere 7-Fr multipolare (Pentaray, Biosense Webster) campionando almeno 900 punti distribuiti uniformemente. Le mappe sono state editate impostando la densità dei punti a 5 mm, eliminando manualmente i punti intracavitari e riconfermando le aree a basso voltaggio acquisendo ulteriori punti durante l'ablazione trans-catetere. In tutti i casi, il catetere è stato inserito in un introduttore lungo deflettibile (Agilis, Abbott) posizionato nel VD o nel VS (in quest'ultimo caso attraverso un approccio trans-settale), che ha permesso di raggiungere le camere ventricolari con adeguati contatto e stabilità. Ogniqualvolta è stata identificata una regione a basso voltaggio, è stato effettuato un rimappaggio con il catetere ablatore al fine di confermare il risultato e ridurre il rischio di falsi positivi.

Anche se disponibile, abbiamo preferito non utilizzare il *merging* software tra EVM e RM. Tuttavia, prima della procedura, il team cardiologico (elettrofisiologo, cardio-radiologo, ingegnere CARTO) ha valutato le immagini RM acquisite. Il team ha analizzato tutte le aree di interessamento patologico e definito la fattibilità e il grado di sicurezza della procedura. Qualora l'EVM mostrasse un normale substrato miocardico, il prelievo bioptico è stato effettuato nell'area patologica più ampia

identificata dalla RM, selezionando la zona a più facile accesso e con il più basso rischio di complicanze.

Biopsia endomiocardica

La biopsia endomiocardica guidata da EVM è stata eseguita in tutti i pazienti sotto guida ICE, allo scopo di migliorare l'accuratezza diagnostica e il grado di sicurezza. La possibilità di effettuare prelievi di tessuto miocardico in aree selezionate in base al coinvolgimento patologico consente infatti di limitare l'errore di campionamento. Il biotomo viene visualizzato con il sistema CARTO per valutarne precisamente la posizione.¹¹³ Diversi campioni sono stati prelevati quanto più vicino possibile alle aree con elettrogrammi bipolari e/o unipolari anormali. In caso di EMB del VS, è stato usato un approccio trans-settale. L'analisi dei campioni è stata effettuata in modo tale da ottenere un'unica risposta analitica per paziente. Difatti, tutti i campioni esaminati dagli anatomo-patologi e l'insieme delle informazioni emerse dalle analisi sono state utilizzate per formulare una diagnosi.

Le analisi dei campioni sono state effettuate presso un laboratorio ad alto volume (Unità Patologia Cardiovascolare, Dipartimento di Scienze Cardio-Toraco-Vascolari, Azienda Ospedaliera-Università di Padova). Per ogni paziente sono stati prelevati da 3 a 5 campioni per le analisi istologiche e immunoistochimiche, fissati con soluzione neutra di formalina al 10% tamponata al fosfato (pH 7.35) e incorporati in paraffina. In primis è stata eseguita l'analisi istologica. Una volta tagliate sezioni seriate con spessore di 6 µm, è stata eseguita la colorazione con ematossilina-eosina per l'analisi morfologica e la colorazione tricromica di Masson per il rilevamento della fibrosi. L'immunoistochimica ha permesso la caratterizzazione dell'infiltrato infiammatorio utilizzando i seguenti anticorpi: CD3, CD20 e CD68 (Dako Corporation, Glostrup, Denmark). Nei pazienti presentanti segni istologici di sostituzione fibro-adiposa, è stata eseguita un'analisi istomorfometrica al fine di calcolare l'estensione dell'atrofia del miocardio e della sostituzione fibro-adiposa.¹¹⁴ In base ai criteri diagnostici pubblicati, una fibrosi sostitutiva interessante più del 40% dei miociti è stata considerata un criterio diagnostico maggiore, mentre una percentuale di sostituzione fibrosa compresa tra il 25% e il 40% è stata considerata un criterio minore. In caso di sospetto di miocardite, uno screening molecolare eseguito tramite *polymerase chain*

reaction (PCR) e *reverse transcriptase PCR* (rtPCR), ha permesso di identificare l'eventuale presenza del genoma virale.

Quando non sono state rilevate aree anomale, i campioni biotipici sono stati prelevati da aree evidenziate con RM (ad esempio aree con LGE e/o con edema del miocardio) e/o con alterazioni all'ICE (ad esempio aree cicatriziali e/o con acinesia). In caso di EMV, RM, ICE non alterati, sono stati prelevati da aree convenzionali, ovvero dal setto interventricolare.

La diagnosi di ACM è stata riformulata aggiungendo i risultati della biopsia endomiocardica ai dati ottenuti tramite procedure diagnostiche non invasive. Al fine di valutare il ruolo della biopsia nel processo diagnostico, le diagnosi ottenute in seguito all'aggiunta delle informazioni biotipiche (diagnosi post-EMB) sono state confrontate con le diagnosi ottenute dopo l'esecuzione di test non invasivi (diagnosi non invasiva). Abbiamo quindi confrontato i risultati delle procedure diagnostiche non invasive con quelli ottenuti dopo l'esecuzione del test genetico (diagnosi post-genetica). Infine, abbiamo rivalutato le diagnosi avvalendoci sia della EMB sia del test genetico e posto anch'esse a confronto con le diagnosi non invasive. Tali operazioni ci hanno permesso di valutare il ruolo diagnostico del test genetico sia quando usato in esclusiva o sia quando sommato ai risultati della EMB.

Valutazione genica

Nel rispetto delle linee guida sull'indicazione all'analisi genetica¹¹⁰, tale valutazione è stata proposta esclusivamente ai pazienti con alta probabilità clinica di ACM. I pazienti che hanno fornito il consenso hanno eseguito un counseling genetico con ricostruzione dell'albero genealogico e prelievo ematico. Il campione di sangue periferico è stato raccolto all'interno di provette con EDTA e il DNA genomico è stato estratto con il mini kit Qiaamp DNA (Qiagen) conformemente alle procedure standard. La preparazione del DNA è stata effettuata usando il kit TruSight™ Cardio Sequencing. Successivamente, è stato utilizzato il *Next Generation Sequencing* (Illumina NextSeq) per identificare le potenziali varianti. L'analisi delle specifiche sequenze geniche (GRCh37/hg19) è stata eseguita utilizzando il software GATK (Genome Analysis Toolkit). Ogni singola variante nucleotidica e indel è stata salvata come format file VCF e caricata su Wannovar (<http://wannovar.wglab.org/>), per filtrare le variazioni e per consentire l'interpretazione. Tutte le varianti sono state classificate seguendo le

direttive del *American College of Medical Genetics and Genomic*, e gli aggiornamenti inerenti il loro specifico ruolo patogenetico nella ACM sono stati recuperati su *VarSome: The Human Genomic Variant Search Engine*.^{108,109} Varianti patogenetiche e potenzialmente tali nei geni *DSC2*, *DSG2*, *DSP*, *PKP2*, *JUP*, *TMEM43*, *RYR2*, *PLN*, *SCN5A* sono state confermate grazie al sequenziamento Sanger e, ove possibile, validati tramite test famigliari e analisi di segregazione. In caso di risultato positivo del test, abbiamo esteso l'analisi anche ai familiari.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata usando SPSS, versione 23 (IBM Corporation, Armonk, New York). I dati sono stati espressi come percentuale, media $\pm$ deviazione standard, se a distribuzione normale, o come mediana e range interquartile se la distribuzione non era normale. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

9.RISULTATI

9.1 CARATTERISTICHE DI BASE DELLA POPOLAZIONE

Sono stati inclusi nello studio 61 pazienti (67,2% maschi), con una età media di $45,3 \pm 13,6$ anni. Le caratteristiche di base della popolazione di studio sono riassunte nella Tabella 1.

I principali motivi per cui i pazienti sono giunti all'attenzione dei medici sono: comparsa di BEV (28 pazienti, 45,9%), comparsa di TV non sostenute e sostenute (otto pazienti, 13,1%) e alterazioni all'ECG (sette pazienti, 11,5%). Il 42,6% dei pazienti era completamente asintomatico. I motivi degli accertamenti iniziali sono riportati più dettagliatamente in Tabella 2. Il 42,6% dei pazienti dichiarava di praticare attività sportiva ($n=26/61$) e, in 17 casi (27,9%), i reperti patologici sono emersi in occasione di visita per idoneità sportiva. L'età media d'esordio dei sintomi, qualora presenti, è risultata pari a $39,9 \pm 12,8$ anni.

Il 13,1% (n=8/61) della coorte riporta familiarità per MCI, mentre il 18% per cardiomiopatia (n=11/61), di cui nove casi di ACM (14,8%) e un caso di DCM (1,6%).

Caratteristiche di base della popolazione (n=61)

Variabili	Valori
Sesso	
Maschile	41 (68,3%)
Femminile	20 (32,8%)
Età mediana (anni)	48
Età mediana d'esordio dei sintomi (anni)	40
Praticanti attività sportiva	26 (42,6%)
Ciclismo	5
Altro	5
Basket	4
Atletica leggera	3
Pallavolo	3
Corsa	2
Nuoto	2
Calcio	1
Riscontro a visita per idoneità sportiva	17 (27,9%)
Familiarità per	
Cardiomiopatia	11 (18%)
MCI	8 (13,1%)

Tabella 1 Caratteristiche di base della popolazione

Motivo degli accertamenti	
Motivo accertamenti	Numero pazienti
Alterazioni ECG	7 (11,5%)
BEV	
Asintomatici	16 (26,2%)
Sintomatici	12 (19,7%)
TV	
Non sostenute	2 (3,3%)
Sostenute	6 (9,8%)
Episodi lipotimici	4 (6,6%)
Episodi sincopali o FV	4 (6,6%)
Riduzione FE	3 (4,9%)
Dispnea	1 (1,6%)
Dolore toracico	3 (4,9%)
Familiarità per ACM	3 (4,9%)

Tabella 2 Motivo degli accertamenti

9.2 CARATTERISTICHE ELETTROCARDIOGRAFICHE

L'ECG ha rivelato la presenza di BEV nel 59,0% (n=36/61) dei pazienti (in 23 pazienti >500 nelle 24 ore), di TV non sostenute nel 31,1% (n=19/61) e TV sostenute nel 21,3% (n=13/61). Si è registrato un criterio maggiore di aritmia in sette pazienti (11,5%) e un criterio minore in 33 pazienti (54,1%).

Quattro pazienti (6,6%) hanno registrato un criterio maggiore per alterazioni della depolarizzazione (onda ϵ nelle derivazioni da V1 a V3), in 17 pazienti (27,9%) abbiamo riscontrato un criterio maggiore per alterazioni della ripolarizzazione (inversione dell'onda T da V1 a V3) e in otto pazienti (13,1%) un criterio minore (inversione dell'onda T da V4 a V6).

Caratteristiche elettrocardiografiche			
Criteri	Aritmie	Alterazioni della depolarizzazione	Alterazioni della ripolarizzazione
Maggiori	7	4	17
Minori	33	0	8

Tabella 3 Caratteristiche elettrocardiografiche

9.3 ALTERAZIONI STRUTTURALI

All'ecocardiogramma, abbiamo rilevato anomalie strutturali del VD nel 32,8% dei pazienti (n=20/61), con anomalie di motilità della parete nel 23,0% dei casi (n=20/61, due pazienti presentavano acinesia, dieci discinesia, sei aneurisma). La *fractional area change* (FAC) è risultata normale nel 72,1% (n=44/61) dei pazienti, ai limiti inferiori nel 13,1% (n=8/61) e bassa nell'11,5% (n=7/61), mentre il *Tricuspidal Annular Plane Systolic Excursion* (TAPSE) è risultato <16 mm solo nell'8,2% dei casi (n=5/61).

I volumi telediastolico e telesistolico del VD sono risultati aumentati nel 9,8% dei casi (n=6/61), ai limiti superiori in un altro 9,8% dei casi (n=6/61).

Abbiamo rilevato un aumento del diametro del tratto di efflusso del VD (RVOT) in proiezione parasternale asse lungo, così come in proiezione parasternale asse corto, nel 19,7% (n=12/61), di cui sei pazienti si attestavano ai limiti superiori. In 47 pazienti (77,0%), tali diametri sono risultati normali.

Il volume telediastolico del VS (LVEDV) è risultato diminuito nel 50,8% dei casi (n=31/61).

La FE era sotto i valori soglia nel 22,9% dei casi (n=14/61).

Sono inoltre emerse in sede di studio ecocardiografico, anomalie di motilità della parete ventricolare sinistra di tipo globale nel 24,6% (n=16/61) e di tipo regionale nel 6,5% dei casi (n=4/61).

In sintesi abbiamo rilevato criteri maggiori di alterazioni strutturali ecocardiografiche nel 6,5% dei pazienti (n=4/61) e criteri minori nel 14,7% dei casi (n=9/61).

Per quanto riguarda la RM, è stata eseguita nel 95,1% dei pazienti (n=58/61), nel 82,8% (n=48/58) dei casi presso il centro cardiologico Monzino. La RM ha mostrato reperti patologici nel 91,4% dei casi (n=53/58), con anomalie di motilità della parete ventricolare destra nel 53,4% dei pazienti (7 casi di acinesia, 17 di discinesia, 25 di *bulging*).

Il volume telediastolico del VD valutato tramite RM e indicizzato per la superficie corporea (RVEDV index) è risultato alterato in 26 pazienti (44,8%), costituendo un elemento compatibile con criterio maggiore di ACM nel 29,3% dei casi (n= 17/58, 12 maschi e 5 femmine) e con criterio minore di ACM nell'12,1% dei casi (n=7/58, 5 maschi e 2 femmine).

La presenza di LGE è invece emersa in 41 pazienti (70,7%). La sede dell'LGE era settale in 12 (20,7%) pazienti e suddivisa in: setto sinistro in quattro pazienti (6,9%), setto destro in quattro pazienti (6,9%) e setto a interessamento biventricolare nei restanti quattro pazienti (6,9%). Si è inoltre riscontrato LGE presso la parete libera del VD nel 43,1% dei casi, n=25/58 (anterolaterale in 9 pazienti, posterolaterale in 1 paziente e apicale in 3 pazienti) e presso la parete libera del VS nel 43,1% dei casi, n=25/58 (anterolaterale in 8 pazienti, posterolaterale in 16 pazienti e apicale in 1 paziente).

Lo studio RM ha quindi rilevato criteri maggiori di alterazione strutturale in 13 casi e criteri minori in 23 pazienti. Accorpendo i risultati ecocardiografici e della RM, i TFC per alterazione strutturale ammontano a 13 criteri maggiori e 25 criteri minori.

TFC per alterazioni strutturali	
TFC	Numero
Criteri TTE	
Maggiori	4
Minori	9
Criteri RM	
Maggiori	13
Minori	23
Totale TFC per alterazioni strutturali	
Maggiori	13
Minori	25

Tabella 4 TFC per alterazioni strutturali

9.4 VALUTAZIONE DA SFORZO E ISCHEMICA

Trenta pazienti (49,2%) hanno eseguito il test da sforzo, che solo in un caso è risultato positivo per alterazioni elettrocardiografiche di tipo ischemico.

Al fine di escludere stenosi coronariche, i pazienti sono stati sottoposti a coronarografia nel 29,5% dei casi (n=18/61), Coro-TC nel 13,1% (n=8/61) o entrambi gli esami nel 3,3% dei casi (n=2/61). L'esito è risultato negativo nel 93,1% dei casi (n=27/29) e positivo nel 6,9% (n=2/29).

9.5 SEF

Lo studio elettrofisiologico è stato eseguito in 59 pazienti (96,7%): in 39 casi (66,1%) lo studio non ha evidenziato anomalie, nel 10,2% dei pazienti sono state indotte TV non sostenute (n=6/59) e nel 27,1% dei casi è stata indotta una TV sostenuta (n=16/59). In nessun caso è stata indotta FV.

9.6 EVM

Il mappaggio elettroanatomico è stato eseguito in 60 pazienti (98,4%). L'EVM solo destro è stato eseguito in 55 pazienti (91,7%): in 29 casi (52,7%) sono emerse aree patologiche al voltaggio bipolare e in 41 pazienti (74,5%) al voltaggio unipolare. Abbiamo effettuato l'EVM solo sinistro nel 33,3% dei pazienti (n=20/60), con risultati patologici al voltaggio bipolare nel 40,0% (n=8/20) e al voltaggio unipolare nel

55,0% (n=11/20). Quindici pazienti (25,0%) sono stati sottoposti a mappaggio biventricolare.

9.7 EMB

Il prelievo biptico è stato effettuato in tutti i pazienti, prelevando campioni miocardici dal VD in 52 pazienti (85,2%), dal VS in cinque pazienti (8,2%) e da entrambe le camere cardiache nel 6,6% dei casi (n= 4/61). I campioni prelevati sono risultati adeguati all'analisi istopatologica nell'86,9% dei casi (n=53/61), mentre nel 13,1% (n=8/61) dei casi, il campione è stato ritenuto non sufficiente per formulare un'analisi diagnostica.

L'analisi dei campioni bioptici ha dato i seguenti risultati: si sono riscontrate caratteristiche istologiche compatibili con un criterio diagnostico maggiore di ACM in 29 prelievi (47,5%) e con criterio diagnostico minore in 18 prelievi (29,5%). Inoltre, tramite analisi PCR, è stata riscontrata una concomitante miocardite in tre casi (4,9%).

Solo in due pazienti si sono verificate complicanze intra o post-procedurali: dissezione iatrogena dell'arteria iliaca esterna destra in corso di procedura ablativa nel primo caso e formazione di uno pseudoaneurisma rifornito nel secondo caso. La dissezione dell'arteria iliaca esterna, avvenuta a causa del posizionamento dell'introduttore lungo utilizzato per l'ablazione, ha richiesto trattamento con angioplastica percutanea transluminale e applicazione di uno stent, mentre lo pseudoaneurisma non ha necessitato di correzione chirurgica: 5 giorni dopo la procedura si presentava trombizzato e non rifornito.

9.8 TEST GENETICO

Abbiamo eseguito un test genetico nel 75,4% dei pazienti (n=46/61). In 22 pazienti (47,8%), è stata riscontrata una mutazione patogenetica di ACM. La mutazione del gene PKP-2, rilevata in 11 pazienti, è risultata la più frequente (50,0%). A seguire, in ordine di frequenza, abbiamo riscontrato mutazioni del gene DSP in cinque pazienti (22,7%) e del gene DSG-2 in quattro pazienti (18,2%).

Mutazioni patogenetiche di ACM	
Geni	Numero pazienti
PKP-2	10 (45,5%)
DSP	5 (22,7%)
DSG-2	4 (18,2%)
TMEM-43	1 (4,5%)
JUP	1 (4,5%)
PKP-2 + altro	1 (4,5%)

Tabella 5 Mutazioni patogenetiche di ACM

In 21 casi, il test genetico ha rilevato un criterio diagnostico maggiore di ACM, mentre in un solo caso è emerso un criterio minore.

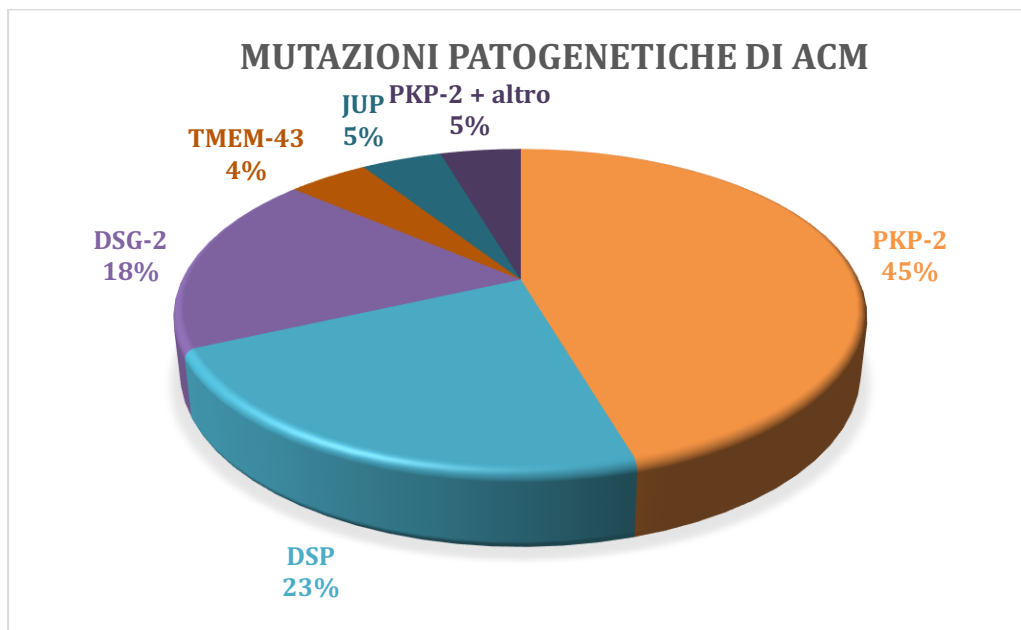


Grafico 1 Mutazioni patogenetiche di ACM

9.9 DIAGNOSI DEFINITIVA

Considerati i criteri diagnostici maggiori e minori ottenuti dai vari studi e applicate le indicazioni della International Task Force sono emerse le seguenti diagnosi:

- ACM classica nel 50,8% dei pazienti (n=31/61);
- ACM a dominanza sinistra nel 18,0% (n=11/61);
- ACM biventricolare nel 16,4% (n=10/61)

Inoltre, nel 4,9% (n=3/61) dei casi è stata riscontrata miocardite concomitante alla forma classica di ACM, mentre in un caso (1,6%) miocardite associata ad ACM a dominanza sinistra.

Analisi della diagnosi secondo TFC

Escludendo i risultati biotipici e del test genetico, alla valutazione non invasiva, la nostra popolazione si suddivideva in: 15 pazienti (24,6%) con diagnosi possibile di ACM, 19 pazienti (31,1%) con diagnosi borderline e 13 pazienti (21,3%) con diagnosi definitiva. 14 pazienti (23,0%) non avevano criteri per porre una diagnosi possibile di ACM sulla base dei TFC 2010, ma si sono sottoposti agli studi biotipico e genetico in virtù di un forte sospetto di ACM a dominanza sinistra, per la quale, come precedentemente discusso, i criteri diagnostici ufficiali sono ancora carenti.

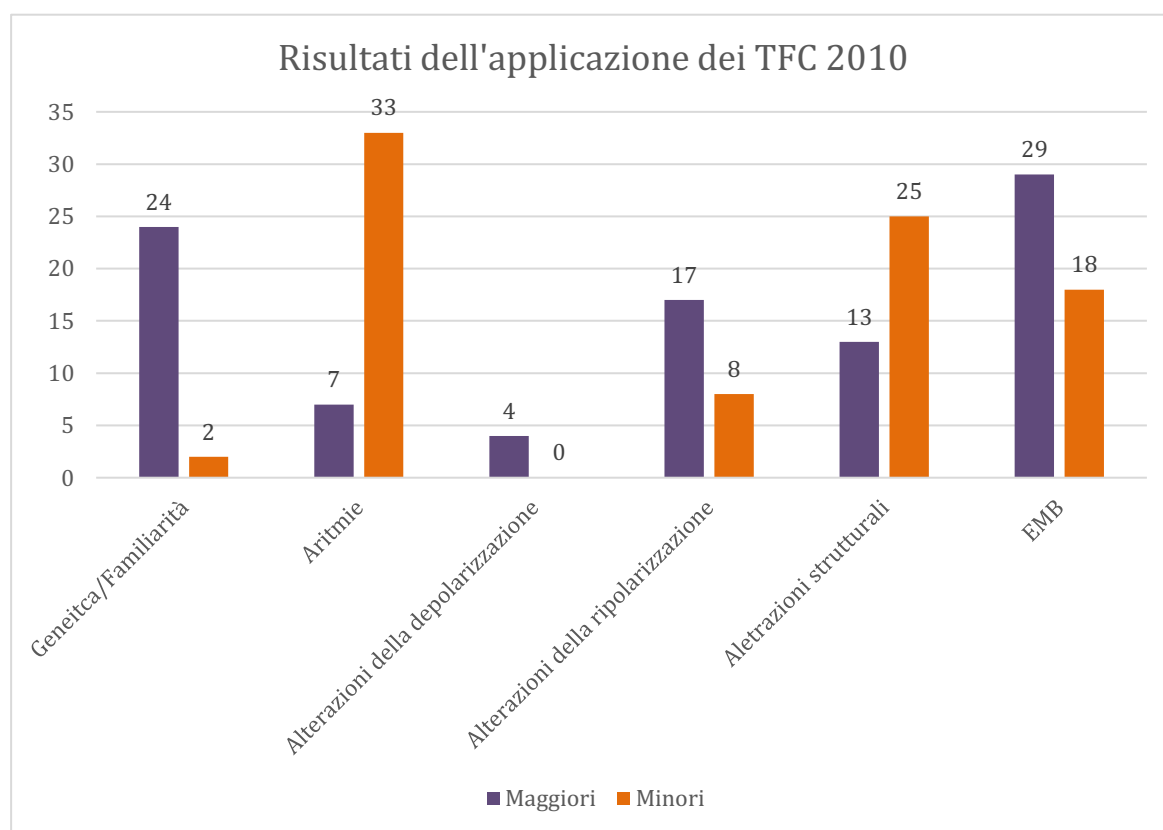


Grafico 2 Risultati dell'applicazione dei TFC 2010

In seguito all'esecuzione della EMB (in cui si rilevano 29 criteri maggiori e 18 criteri minori) e al riesame dei criteri diagnostici, emerge che i pazienti con diagnosi possibile di ACM si sono ridotti a 10 casi (16,4%), i pazienti con diagnosi borderline si

sono ridotti a 14 (23,0%), mentre il 57,4% della nostra popolazione ha raggiunto i criteri per una diagnosi definitiva (n=35/61). In due pazienti (3,3%), il prelievo biotico non ha permesso di confermare la diagnosi di ACM. Complessivamente la biopsia endomiocardica ha permesso di riclassificare 38 pazienti (62,3%) verso una classe maggiore di diagnosi TFC.

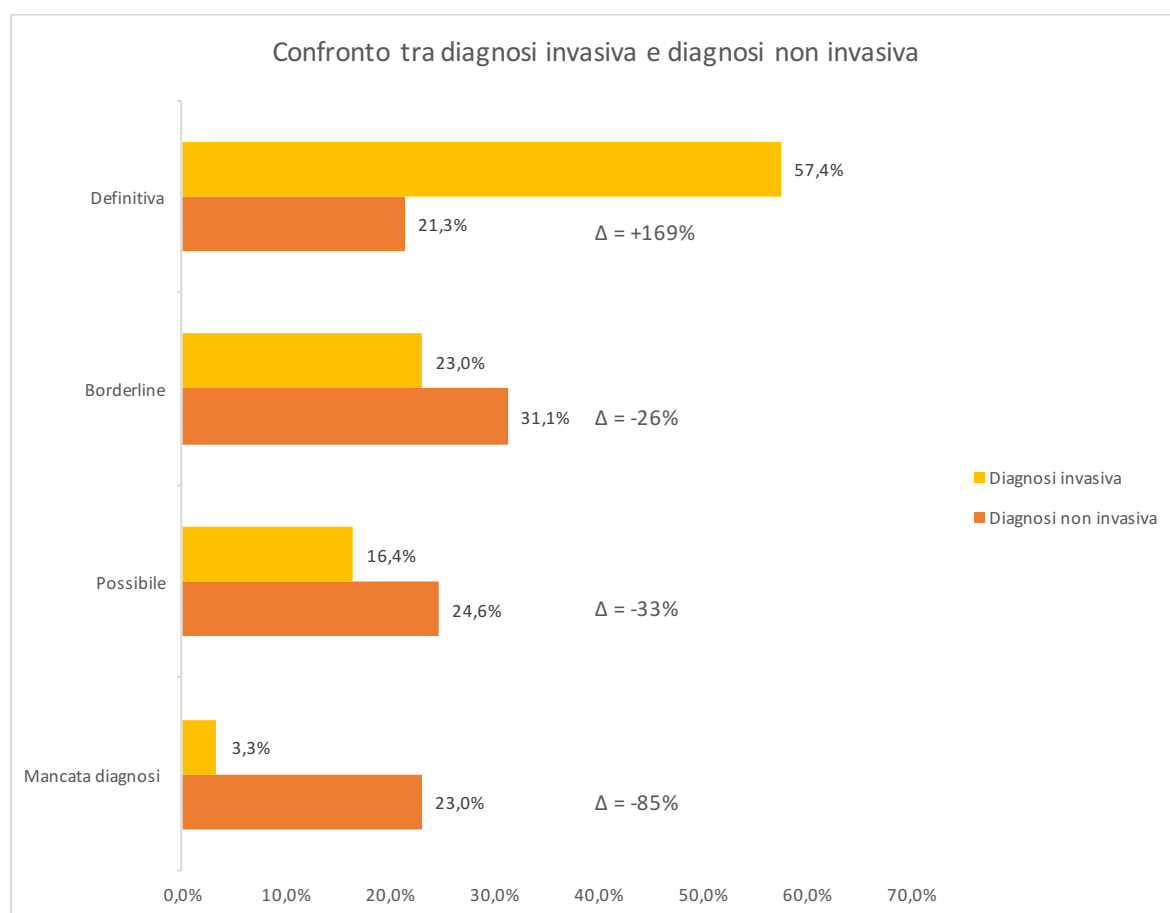


Grafico 3 Confronto tra diagnosi non invasiva e diagnosi invasiva

Eseguendo il test genetico, osserviamo che, rispetto alla diagnosi non invasiva, il numero di diagnosi possibili scende a cinque (8,2%), a sette quelle borderline (11,5%) e salgono a 22 le diagnosi definitive (36,1%). È in discesa anche il numero di pazienti che non riceve diagnosi di ACM (13,1%, n=8). Complessivamente l'analisi genetica ha permesso di riclassificare 16 pazienti (26,2%) verso una classe maggiore di diagnosi TFC.

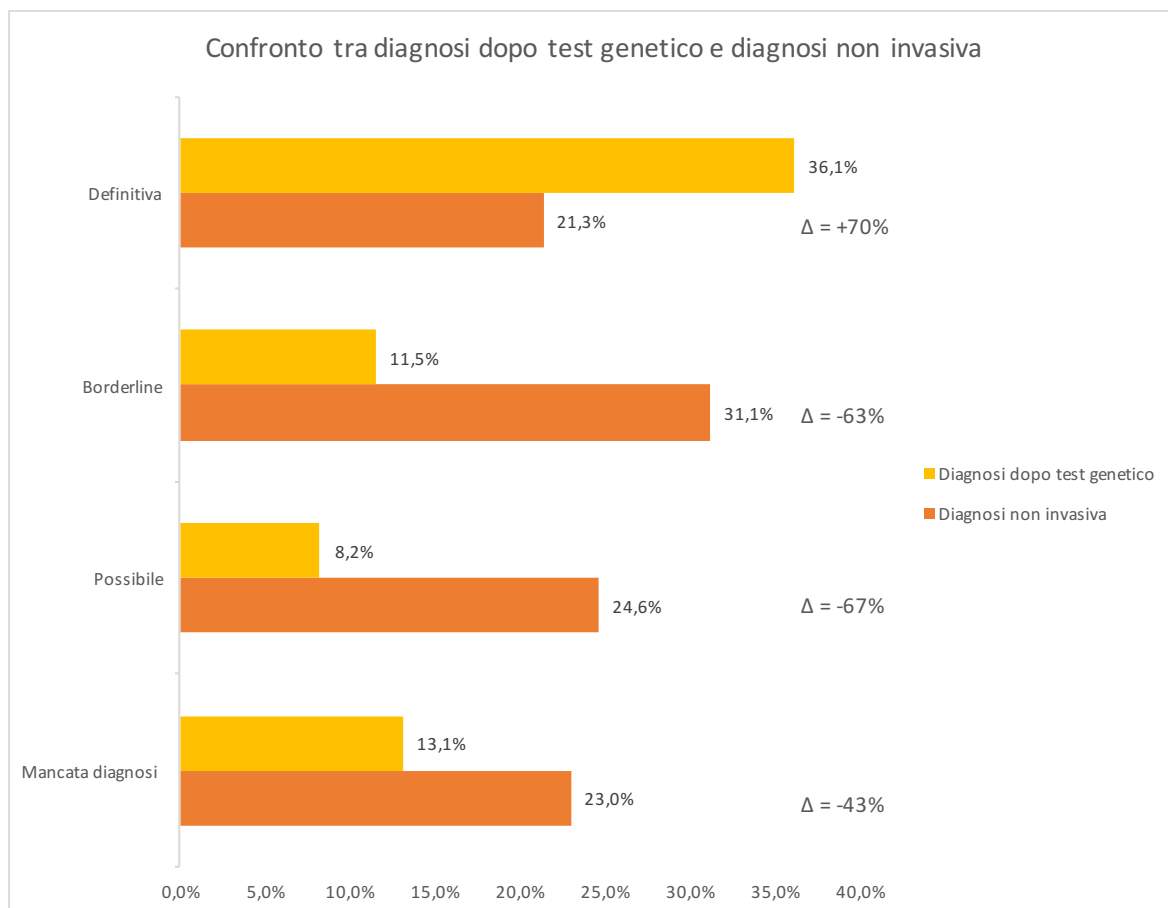


Grafico 4 Confronto tra diagnosi dopo test genetico e diagnosi non invasiva

Infine, se consideriamo il contributo della biopsia e del test genetico insieme, la percentuale di pazienti con diagnosi possibile scende al 14,8% (n=9/61), alla stessa percentuale quella di diagnosi borderline (14,8%; n=9/61) e sale al 67,2% quella di diagnosi definitiva (n= 41/61). Rimangono due pazienti senza diagnosi di ACM (3,3%).

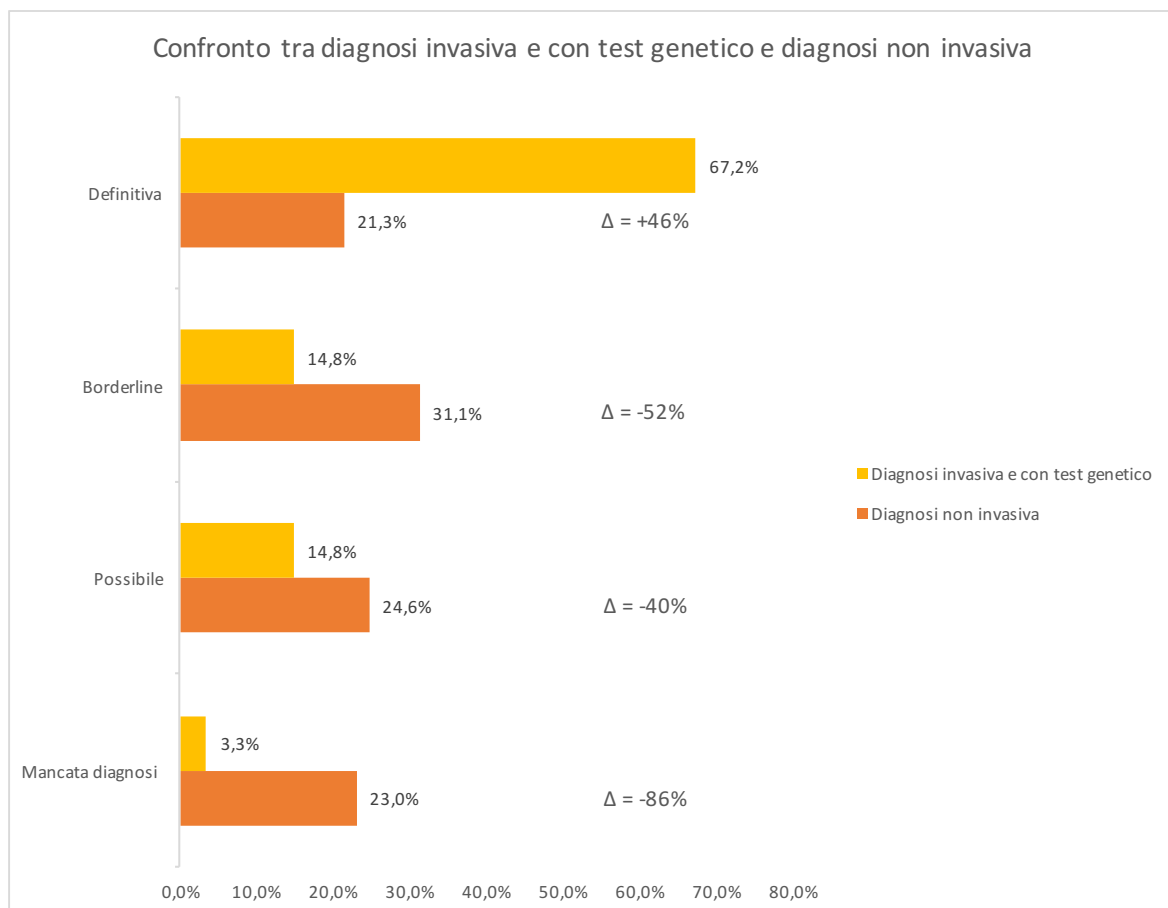


Grafico 5 Confronto tra diagnosi invasiva e con test genetico e diagnosi non invasiva

L'apporto del test genetico e della EMB insieme ha permesso di riclassificare verso una classe maggiore di diagnosi TFC 41 pazienti (67,2%).

Il grafico sottostante mostra il numero e i livelli delle riclassificazioni diagnostiche avvalendosi del solo test genetico, della sola EMB o di entrambe:

- Il solo test genetico ha permesso la riclassificazione verso una classe maggiore di diagnosi TFC di un livello nel 16,4% (n=10) dei pazienti e di due livelli nel 9,8% (n=6) dei pazienti;
- La sola EMB ha determinato una riclassificazione di un livello nel 41,0% (n=25) e di due livelli nel 21,3% (n=13) dei pazienti;
- Sfruttando entrambi gli esami la riclassificazione di un livello è avvenuta nel 41,0% (n=25) dei pazienti, di due livelli nel 24,6% (n=15) e di tre livelli nell'1,6% (n=1) dei casi.

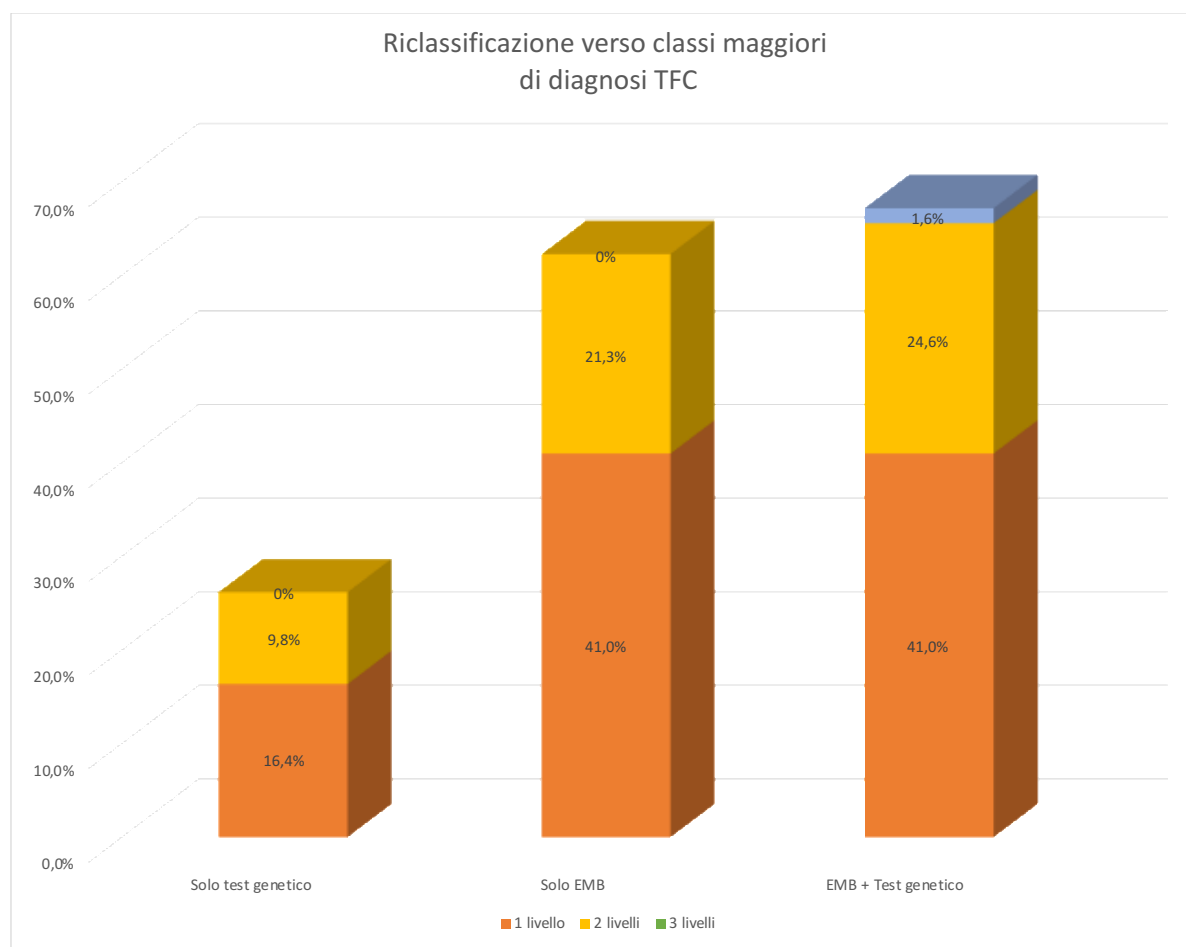


Grafico 6 Riclassificazione verso classi maggiori di diagnosi TFC

10.DISCUSSIONE

I risultati fondamentali del nostro studio possono essere riassunti nei seguenti punti:

- 1) L'EMB guidata da EVM rappresenta un criterio fondamentale per raggiungere la diagnosi di patologia secondo i TFC;
- 2) Il test genetico migliora la performance diagnostica dei TFC, ma in misura minore rispetto alla EMB;
- 3) Gli esami RM, EVM ed EMB guidata da EVM sono molto utili nell'identificazione delle forme non classiche di ACM.

La cardiopatia aritmogena è una patologia che ha un importante impatto, dal punto di vista prognostico, sul paziente e su i suoi familiari; per questo risulta fondamentale una sua precoce e precisa diagnosi che la differenzi dalle sue numerose fenocopie

(miocarditi, DCM, cuore d'atleta, VT RVOT). Attualmente la diagnosi si basa sul raggiungimento di uno score che viene calcolato tenendo conto di diverse classi di fattori: la storia familiare e personale, le alterazioni ecografiche e le alterazioni strutturali evidenziate all'ecocardiogramma e alla RM cardiaca. Essendo stata maggiormente studiata e categorizzata la ACM classica ed essendo poco accurata la risonanza magnetica nella valutazione della disfunzione e della dilatazione della sottile parete ventricolare destra, il rilevamento di LGE tramite RM non è annoverato tra i criteri diagnostici di caratterizzazione tissutale. Tuttavia, il riscontro di LGE in VD o, nello spessore più rappresentato del VS, pone un importante sospetto diagnostico. Infatti, nell'ultimo decennio la RM sta conquistando un ruolo di primo piano, sia in virtù del progressivo miglioramento delle sue performance sia delle sempre maggiori conoscenze delle ACM biventricolari o a dominanza sinistra. Si riconferma quindi anche nel nostro studio, l'importanza della RM, oltre che della biopsia endomiocardica, nella diagnosi di ACM, ancora di più nei casi borderline e in particolare nei casi di LDAC, per la quale, appunto, non disponiamo di criteri adeguati. Pare opportuno ricordare che in 23 casi (37,7%), la RM ha riscontrato alterazioni tissutali laddove l'ecocardiografia aveva dato risultati negativi. Ricordiamo infatti che il vantaggio della RM consiste anche nel permettere diagnosi molto precoci, mostrando segni di ACM anche in presenza di una normale funzione contrattile ventricolare.

Nel nostro studio, l'LGE è stato riscontrato nella maggioranza dei pazienti (70,7%, n=41/58), di cui più della metà nella camera ventricolare sinistra (56,9%, n=33/58), dimostrandosi pertanto un utile strumento nei casi di LDAC. Tuttavia, in linea con i precedenti studi, l'EVM da solo ha dimostrato alta sensibilità e specificità se paragonato alla RM nel rilevare aree patologiche di miocardio (alterazioni patologiche sono emerse in 53 pazienti, 86,9%). Pertanto, l'EVM si riconferma una valida alternativa alla RM nel caso in cui questa non fosse disponibile o tollerata dal paziente o quando la sua interpretazione fosse limitata dalla presenza di dispositivi intracardiaci quale un ICD.

Inoltre, se la RM ha rilevato criteri diagnostici di ACM in 36 pazienti (59,0%, n=36/61), la EMB ha evidenziato risultati patologici in 47 pazienti (77,0%), seppure dobbiamo considerare che la RM non è stata eseguita in tutti i pazienti della coorte, bensì nel 95,1%.

Ad ogni modo, rispetto alla diagnosi di tipo non invasivo, la EMB ha aumentato il numero di diagnosi di ACM da 47 a 59, riducendo dell'8,2% la percentuale di diagnosi possibili, dell'8,1% il numero di diagnosi borderline ed aumentando del 36,1% il numero di diagnosi definitive.

Il test genetico, se confrontato con la diagnosi non invasiva, riduce invece del 16,4% la percentuale di diagnosi possibili, del 19,7% quelle borderline e incrementa del 14,8% le diagnosi definitive. Se effettuato in alternativa alla EMB, il test genetico appare dunque meno incisivo nel riclassificare i pazienti verso classi maggiori di diagnosi di ACM. Inoltre, sempre più spesso l'analisi genetica viene consigliata solo dopo che è stata fatta una diagnosi clinica, proprio per i limiti che la genetica ha evidenziato nel corso degli anni e che hanno portato recentemente a una riclassificazione di numerose varianti da patogenetiche a varianti di incerto significato. Quindi, come detto, la genetica è spesso un passaggio effettuato solo dopo il raggiungimento di una diagnosi clinica al solo scopo di poter permettere lo screening e la valutazione precoce di eventuali familiari portatori della stessa mutazione.

Infine, quando considerati insieme -test genetico e biopsia endomiocardica- la riduzione della percentuale di diagnosi possibili è pari al 9,8%, al 16,3% quella delle diagnosi borderline e il guadagno di diagnosi definitive è pari al 45,9%.

Osservando nel dettaglio le riclassificazioni diagnostiche, notiamo che non solo la percentuale di pazienti che guadagna un livello maggiore di diagnosi è considerevolmente superiore se eseguita la EMB in esclusiva o in associazione al test genetico, ma incrementa in modo importante anche il numero di pazienti che, grazie alla EMB, migliorano il loro livello diagnostico di due livelli.

Vantaggio indiscutibile della EMB è oltretutto quello di poter diagnosticare miocarditi concomitanti, come è accaduto nel 4,9% della nostra coorte (n=3/61). Si tratta di pattern misti in cui alla diagnosi istologica di ACM si affianca un infiltrato linfocitario importante. Come già anticipato, tale reperto potrebbe rappresentare una fase iniziale della malattia, o "hot phase", in cui spiccano necrosi miocardiocitaria ed infiammazione reattiva e che sembra delineare una situazione a maggior rischio aritmico per il paziente.

Per quanto riguarda le forme a dominanza sinistra della patologia, la RM ha permesso di identificare segni di ACM (tramite il rilevamento di LGE) in 33 casi (56,9%), sebbene l'LGE non venga attualmente annoverato tra i criteri diagnostici della malattia. Al contrario, in questi pazienti, la EMB ha riscontrato in 20 casi criteri diagnostici, di cui 15 maggiori e 5 minori.

Nonostante il ruolo diagnostico di EVM e RM, 3 (4,9%) pazienti della nostra coorte sono risultati negativi per ACM alla caratterizzazione tissutale, mostrando poi criteri diagnostici di ACM maggiori e minori all'analisi istologica. In presenza di forte sospetto clinico, rimane dunque opportuna l'esecuzione della biopsia nonostante i risultati negativi di RM ed EVM.

Il gruppo Sinagra et al. ha recentemente dimostrato una correlazione importante tra presentazione alla RM e prognosi del paziente: in particolare, senza la caratterizzazione dell'RM, il rischio di aritmie ventricolari maligne a 5 anni è ben valutato per la ACM destra, ma significativamente sottostimato in caso di LDAC.¹¹²

Si auspica che in futuro, l'implementazione della RM e un più vasto utilizzo della EMB, possano permettere una più chiara caratterizzazione delle cardiomiopatie non ischemiche, al fine di fornire trattamenti più mirati per ciascuna patologia.

10.1 EVM UNIPOLARE E BIPOLARE

In linea con la letteratura precedente, nel nostro studio l'EVM unipolare si conferma lo strumento diagnostico migliore come guida della EMB. Casella et al. dimostrano infatti come le mappe unipolari, esprimendo un interessamento epicardico, risultano coinvolte per prime nelle fasi iniziali della patologia¹¹³; nella nostra coorte, 52 pazienti (88,1%) hanno mostrato alterazioni al solo EVM unipolare, mentre 37 pazienti all'EVM bipolare (62,7%). Inoltre, le aree patologiche visualizzate in mappe unipolari, sono generalmente più ampie delle rispettive aree in mappe bipolari, facilitando l'esecuzione di un prelievo biotico mirato, sia perché aumenta l'area da poter caratterizzare sia perché permette di avere una maggiore superficie in cui scegliere una posizione tecnicamente più raggiungibile con il biotomo.

Nel 50% (n=10) dei pazienti sottoposti a EVM sinistro, sono stati evidenziati reperti patologici. L'EVM appare dunque un utile strumento anche nella diagnosi di ACM sinistra o biventricolare.

10.2 COMPLICANZE

Le complicanze di una procedura quale la biopsia endomiocardica, seppur rare, sono inevitabili. Tuttavia, il protocollo utilizzato riduce significativamente il tasso di complicanze. Difatti, l'utilizzo dell'EVM da un lato permette di identificare accuratamente l'area patologica da campionare, riducendo il numero di campioni necessari all'analisi istologica. D'altra parte l'utilizzo dell'ICE, come detto precedentemente, permette di focalizzarci sulle aree di miocardio più sicure, evitando zone aneurismatiche ed apparati valvolari, così da scongiurare eventuali complicanze meccaniche. La EMB convenzionale ha un tasso di complicanze pari al 6%.^{48,49} Nella nostra coorte, queste si sono presentate in solo due casi (3,3%), di cui solo uno ha richiesto un intervento urgente, tra l'altro in un caso in cui è stata effettuata contestualmente l'ablazione del substrato aritmico. Tali risultati consolidano il grado di sicurezza di questa metodologia. Per questo auspichiamo un sempre maggior impiego della procedura nella pratica clinica.

10.3 LIMITI

Innanzitutto, a causa del disegno dello studio, non è stato possibile effettuare un confronto diretto tra EMB guidato da EVM, EMB guidato da RM e EMB tradizionale. La necessità dell'ecocardiografia intracardiaca e del catetere con sensore di contatto, onde evitare per quanto possibile il numero di falsi positivi e massimizzare l'accuratezza della procedura, portano con sé la necessità di disporre di tecnologie avanzate e dal costo elevato. Un limite importante dello studio è stata infine l'inadeguatezza del prelievo bioptico in una minoranza non trascurabile di casi (14,8%), seppure in linea con i dati presenti in letteratura. Si noti infine che l'indagine genetica non è stata eseguita in tutti i pazienti della coorte, seppure nella sua maggioranza.

11.CONCLUSIONI

La EMB guidata da EVM risulta essere uno strumento sicuro e accurato nella diagnosi di ACM in tutte le sue varianti. Fornisce criteri diagnostici di ACM in misura significativamente maggiore sia quando confrontata alle sole indagini di tipo non invasivo, sia quando a queste si aggiungono i risultati del test genetico, sebbene la migliore performance diagnostica si registri quando vengono eseguiti entrambi gli esami. L'EVM, specialmente quello di tipo unipolare, si conferma fondamentale nell'evidenziare alterazioni patologiche non emerse in corso di indagini non invasive, in particolar modo nelle forme non classiche di ACM, e nella guida della EMB, al fine di massimizzarne la sensibilità. Si conferma inoltre la necessità di una standardizzazione dei criteri diagnostici nelle varianti non classiche di ACM.

12.BIBLIOGRAFIA

1. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: evaluation of the current diagnostic criteria and differential diagnosis. Domenico Corrado, Peter J van Tintelen, William J McKenna, Richard N W Hauer, Aris Anastakis, Angeliki Asimaki, Cristina Basso, Barbara Bauce, Corinna Brunckhorst, Chiara Bucciarelli-Ducci *European Heart Journal*, Published: 21 October 2019
2. Laennec R. *De l'auscultation médiate ou traité du diagnostic des maladies des poumons et du coeur, fondé principalement sur ce nouveau moyen d'exploration*. Paris: Brosseau & Chaudé; 1819. Book II, ch. XV.
3. Dalla Volta S, Battaglia G, Zerbini E. Auricularization of right ventricular pressure curve. *Am Heart J* 1961;25-33.
4. La cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro: aspetti clinici e medico-legali Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Gaetano Thiene ; Coordinatore d'indirizzo: Ch.mo Prof. Gaetano Thiene ; Supervisore : Ch.mo Prof. Gaetano Thiene; Dottorando : Luigi Angelo Demori
5. History of the discovery of Arrhythmogenic Cardiomyopathy. Daniela Marrone, Fabio Zampieri, Cristina Basso, Alberto Zannatta, Gaetano Thiene *European Heart Journal*, Volume 40, Issue 14, 07 April 2019
6. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of

Cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93:841 LP-842.

7. Nava A, Thiene G, Canciani B, Scognamiglio R, Daliento L, Buja G, Martini B, Stritoni P, Fasoli G: Familial occurrence of right ventricular dysplasia: A study involving nine families. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12:1222–1228.
8. Basso C, Corrado D, Marcus FI, Nava A, Thiene G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Lancet*. 2009;373:1289–1300. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60256-7.
9. Basso C, Bauce B, Corrado D, Thiene G. Pathophysiology of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Nat Rev Cardiol*. 2011;9:223–233. doi: 10.1038/nrcardio.2011.173.
10. Peters S, Trümmel M, Meyners W: Prevalence of right ventricular dysplasia-cardiomyopathy in a non-referral hospital. *Int J Cardiol* 2004; 97:499–501.
11. Thiene G, Corrado D, Basso C: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2:1–16.
12. Thiene G, Corrado D, Basso C: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2:1–16.
13. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Dysplasia, dystrophy, or myocarditis? Basso C, Thiene G, Corrado D, Angelini A, Nava A, Valente M *Circulation*. 1996 Sep 1; 94(5):983-91.
14. Right ventricular dysplasia: a report of 24 adult cases. Marcus FI, Fontaine GH, Guiraudon G, Frank R, Laurenceau JL, Malergue C, Grosgeat Y *Circulation*. 1982 Feb; 65(2):384-98.
15. Sudden Death and Left Ventricular Involvement in Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *Circulation*. 2019 Apr 9; 139(15): 1786–1797. Chris Miles, MBChB, MRCP,¹ Gherardo Finocchiaro, MD,¹ Michael Papadakis, MBBS, MD, MRCP,¹ Belinda Gray, MBBS, PhD,¹ Joseph Westaby, BMBS, MSc,¹ Bode Ensam, MBBS, MRCP,¹ Joyee Basu, BMBCh, MA, MRCP,¹ Gemma Parry-Williams, MBChB, MRCP,¹ Efstathios Papatheodorou, MD,¹ Casey Paterson, BCom,¹ Aneil Malhotra, MBBChir, MA, MSc, PhD, MRCP,¹ Jan Lukas Robertus, MD, PhD,² James S. Ware, MBBChir, MA, PhD, MRCP,³ Stuart A. Cook, PhD, MRCP,³ Angeliki Asimaki, PhD,¹ Adam Witney, PhD,⁴ Irina Chis Ster, MSc, PhD,⁴ Maite Tome, MD, PhD,¹ Sanjay Sharma, BSc(Hons), MD,¹ Elijah R. Behr, MA, MBBS, ^{1,*} and Mary N. Sheppard, MBBCh, MD^{1,*} Published online 2019

Jan 31. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037230

16. Spectrum of clinicopathologic manifestations of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: a multicenter study. Corrado D, Basso C, Thiene G, McKenna WJ, Davies MJ, Fontaliran F, Nava A, Silvestri F, Blomstrom-Lundqvist C, Wlodarska EK, Fontaine G, Camerini F J Am Coll Cardiol. 1997 Nov 15; 30(6):1512-20.
17. Right ventricular cardiomyopathy and sudden death in young people. Thiene G, Nava A, Corrado D, Rossi L, Pennelli N N Engl J Med. 1988 Jan 21; 318(3):129-33.
18. Adipositas cordis, fatty infiltration of the right ventricle, and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Just a matter of fat? Basso C, Thiene G Cardiovasc Pathol. 2005 Jan-Feb; 14(1):37-41.
19. Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death. Basso C, Burke M, Fornes P, Gallagher PJ, de Gouveia RH, Sheppard M, Thiene G, van der Wal A, Association for European Cardiovascular Pathology. Virchows Arch. 2008 Jan; 452(1):11-8.
20. Right ventricular cardiomyopathy: is there evidence of an inflammatory aetiology? Thiene G, Corrado D, Nava A, Rossi L, Poletti A, Boffa GM, Daliento L, Pennelli N Eur Heart J. 1991 Aug; 12 Suppl D():22-5.
21. Myocyte necrosis underlies progressive myocardial dystrophy in mouse *dsg2*-related arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Pilichou K, Remme CA, Basso C, Campian ME, Rizzo S, Barnett P, Scicluna BP, Baucé B, van den Hoff MJ, de Bakker JM, Tan HL, Valente M, Nava A, Wilde AA, Moorman AF, Thiene G, Bezzina CR J Exp Med. 2009 Aug 3; 206(8):1787-802.
22. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: is there a role for viruses? Calabrese F, Basso C, Carturan E, Valente M, Thiene G Cardiovasc Pathol. 2006 Jan-Feb; 15(1):11-7.
23. Eisenberg LM, Eisenberg CA: Wnt signal transduction and the formation of the myocardium. Dev Biol 2006; 293:305–315.
24. Orphanet, Expert reviewer(s): Pr Cristina BASSO, Dr Domenico CORRADO, Dr Kalliopi PILICHOU, Pr Gaetano THIENE. Last update: December 2015
25. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 5 is a fully penetrant, lethal arrhythmic disorder caused by a missense mutation in the TMEM43

- gene. Merner ND, Hodgkinson KA, Haywood AF, Connors S, French VM, Drenckhahn JD, Kupprion C, Ramadanova K, Thierfelder L, McKenna W, Gallagher B, Morris-Larkin L, Bassett AS, Parfrey PS, Young TL. *Am J Hum Genet.* 2008 Apr; 82(4):809-21.
26. Mutations in the area composita protein α T-catenin are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Van Hengel J, Calore M, Bauce B, Dazzo E, Mazzotti E, De Bortoli M, Lorenzon A, Li Mura IE, Beffagna G, Rigato I, Vleeschouwers M, Tyberghein K, Hulpiau P, van Hamme E, Zaglia T, Corrado D, Basso C, Thiene G, Daliento L, Nava A, van Roy F, Rampazzo A. *Eur Heart J.* 2013 Jan; 34(3):201-10.
 27. Regulatory mutations in transforming growth factor-beta3 gene cause arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 1. Beffagna G, Occhi G, Nava A, Vitiello L, Ditadi A, Basso C, Bauce B, Carraro G, Thiene G, Towbin JA, Danieli GA, Rampazzo A. *Cardiovasc Res.* 2005 Feb 1; 65(2):366-73.
 28. Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2). Tiso N, Stephan DA, Nava A, Bagattin A, Devaney JM, Stanchi F, Larderet G, Brahmbhatt B, Brown K, Bauce B, Muriago M, Basso C, Thiene G, Danieli GA, Rampazzo A. *Hum Mol Genet.* 2001 Feb 1; 10(3):189-94.
 29. Arrhythmogenic cardiomyopathy. Kalliopi Pilichou, Gaetano Thiene, Barbara Bauce, Ilaria Rigato, Elisabetta Lazzarini, Federico Migliore, Martina Perazzolo Marra, Stefania Rizzo, Alessandro Zorzi, Luciano Daliento, Domenico Corrado, and Cristina Basso. *Orphanet J Rare Dis.* 2016; 11: 33. Published online 2016 Apr 2. doi: 10.1186/s13023-016-0407-1
 30. Compound and digenic heterozygosity contributes to arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Xu T¹, Yang Z, Vatta M, Rampazzo A, Beffagna G, Pilichou K, Scherer SE, Saffitz J, Kravitz J, Zareba W, Danieli GA, Lorenzon A, Nava A, Bauce B, Thiene G, Basso C, Calkins H, Gear K, Marcus F, Towbin JA; Multidisciplinary Study of Right Ventricular Dysplasia Investigators. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Feb 9; 55(6):587-97. doi: 10.1016/j.jacc.2009.11.020.
 31. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: pathogenic desmosome mutations in index-patients predict outcome of family screening: Dutch arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy genotype-

- phenotype follow-up study. Cox MG¹, van der Zwaag PA, van der Werf C, van der Smagt JJ, Noorman M, Bhuiyan ZA, Wiesfeld AC, Volders PG, van Langen IM, Atsma DE, Dooijes D, van den Wijngaard A, Houweling AC, Jongbloed JD, Jordaens L, Cramer MJ, Doevendans PA, de Bakker JM, Wilde AA, van Tintelen JP, Hauer RN. *Circulation*. 2011 Jun 14;123(23):2690-700. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.988287. Epub 2011 May 23.
32. C. Basso, G. Thiene, D. Corrado, A. Angelini, A. Nava, M. Valente, "Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Displasia, dystrophy or myocarditis?" *Circulation* vol.94, no.5 pp983-991, Sep.1996
 33. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy (ARVD/C): A multidisciplinary study: Design and protocol. Marcus F, Tobwin, W. Zareba, A. Moss, H. Calkins, M. Brown, K. Gear. *Circulation* vol.107, no.23, pp2975-2978, Jun.2003.
 34. Delmar, W.J. McKenna, The Cardiac Desmosome and Arrhythmogenic Cardiomyopathies. From Gene to Disease. *Circ. Res.* Vol.107, no.6, pp.700-714, Sep.2010.
 35. Desmosomal dysfunction due to mutations in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. Yang Z, Bowles NE, Scherer SE, Taylor MD, Kearney DL, Ge S, Nadvoretzkiy VV, DeFreitas G, Carabello B, Brandon LI, Godsel LM, Green KJ, Saffitz JE, Li H, Danieli GA, Calkins H, Marcus F, Towbin JA. *Circ Res.* 2006 Sep 15;99 (6):646-55. Epub 2006 Aug 17.
 36. *Nature*. 2010 Mar 4;464(7285):104-7. doi: 10.1038/nature08780. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. Zhang Q¹, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ.
 37. Harris, C. L., M. Heurich, S. Rodriguez de Cordoba, and B. P. Morgan. 2012. The complotype: dictating risk for inflammation and infection. *Trends Immunol.* 33: 513–521.
 38. The immunology of fibrosis: innate and adaptive responses Georg Wick, Aleksandar Backovic, Evelyn Rabensteiner, Nadine Plank, Christian Schwendtner, and Roswitha Sgonc 2010 Mar; 31(3): 110–119. Published online 2010 Jan 26. doi: 10.1016/j.it.2009.12.001

39. Thiene G, Corrado D, Nava A, Rossi L, Poletti A, Boffa GM, Daliento L, Pennelli N: Right ventricular cardiomyopathy: Is there evidence of an inflammatory aetiology? *Eur Heart J* 1991; 12:22–25.
40. A Rampazzo, A Nava, G.A Danieli, et al. The gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy maps to chromosome 14q23 to q24 *Hum Mol Genet*, 3 (1994), pp. 959-962
41. C Basso, G Thiene, D Corrado, A Anhis, N Andrea, M Valente Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: dysplasia, dystrophy or myocarditis? *Circulation*, 94 (1996), pp. 983-991
42. Papkoff J, Aikawa M: WNT-1 and HGF regulate GSK3 β activity and β -catenin signaling in mammary epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 247:851–858.
43. Cristancho AG, Lazar MA: Forming functional fat: A growing understanding of adipocyte differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, Nature Publishing Group, 2011; 12:722–734.
44. Deb A: Cell-cell interaction in the heart via Wnt/ β -catenin pathway after cardiac injury. *Cardiovasc Res* 2014; 102:214–223
45. Garcia-gras E, Lombardi R, Giocondo MJ, Willerson JT, Schneider MD, Khoury DS, Marian AJ: Suppression of canonical Wnt/ β -catenin signaling by nuclear plakoglobin recapitulates phenotype of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Clin Invest* 2006; 116:2012–2021.
46. Dependence of electrical coupling on mechanical coupling in cardiac myocytes: insights gained from cardiomyopathies caused by defects in cell-cell connections. Saffitz JE *Ann N Y Acad Sci*. 2005 Jun; 1047():336-44.
47. Spatiotemporal development and distribution of intercellular junctions in adult rat cardiomyocytes in culture. Kostin S, Hein S, Bauer EP, Schaper J *Circ Res*. 1999 Jul 23; 85(2):154-67.
48. N-cadherin haploinsufficiency affects cardiac gap junctions and arrhythmic susceptibility. Li J, Levin MD, Xiong Y, Petrenko N, Patel VV, Radice GL *J Mol Cell Cardiol*. 2008 Mar; 44(3):597-606.
49. Remodeling of myocyte gap junctions in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy due to a deletion in plakoglobin (Naxos disease). Kaplan SR, Gard JJ, Protonotarios N, Tsatsopoulou A, Spiliopoulou C, Anastasakis A,

- Squarcioni CP, McKenna WJ, Thiene G, Basso C, Brousse N, Fontaine G, Saffitz JE *Heart Rhythm*. 2004 May; 1(1):3-11.
50. A new diagnostic test for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Asimaki A, Tandri H, Huang H, Halushka MK, Gautam S, Basso C, Thiene G, Tsatsopoulou A, Protonotarios N, McKenna WJ, Calkins H, Saffitz JE *N Engl J Med*. 2009 Mar 12; 360(11):1075-84.
 51. *Circ Res*. 2009 Sep 11;105(6):523-6. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.201418. Epub 2009 Aug 6. Loss of plakophilin-2 expression leads to decreased sodium current and slower conduction velocity in cultured cardiac myocytes. Sato PY¹, Musa H, Coombs W, Guerrero-Serna G, Patiño GA, Taffet SM, Isom LL, Delmar M.
 52. Cardiac ion channels. Roden DM, Balser JR, George AL Jr, Anderson ME *Annu Rev Physiol*. 2002; 64():431-75.
 53. Usefulness of inducible ventricular tachycardia to predict long-term adverse outcomes in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Saguner AM, Medeiros-Domingo A, Schwyzer MA, On CJ, Haegeli LM, Wolber T, Hürlimann D, Steffel J, Krasniqi N, Rüeger S, Held L, Lüscher TF, Brunckhorst C, Duru F *Am J Cardiol*. 2013 Jan 15; 111(2):250-7.
 54. Risk stratification in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated desmosomal mutation carriers. Bhonsale A, James CA, Tichnell C, Murray B, Madhavan S, Philips B, Russell SD, Abraham T, Tandri H, Judge DP, Calkins H *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2013 Jun; 6(3):569-78.
 55. Arrhythmogenic cardiomyopathy: etiology, diagnosis, and treatment. Sen-Chowdhry S, Morgan RD, Chambers JC, McKenna WJ *Annu Rev Med*. 2010; 61():233-53.
 56. Exercise increases age-related penetrance and arrhythmic risk in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated desmosomal mutation carriers. James CA, Bhonsale A, Tichnell C, Murray B, Russell SD, Tandri H, Tedford RJ, Judge DP, Calkins H *J Am Coll Cardiol*. 2013 Oct 1; 62(14):1290-1297.
 57. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Feb 8;57(6):740-50. doi: 10.1016/j.jacc.2010.09.046. Load-reducing therapy prevents development of arrhythmogenic right

ventricular cardiomyopathy in plakoglobin-deficient mice. Fabritz L¹, Hoogendijk MG, Scicluna BP, van Amersfoort SC, Fortmueller L, Wolf S, Laakmann S, Kreienkamp N, Piccini I, Breithardt G, Noppinger PR, Witt H, Ebnet K, Wichter T, Levkau B, Franke WW, Pieperhoff S, de Bakker JM, Coronel R, Kirchhof P.

58. Kirchhof P, Fabritz L, Zwiener M, et al.: Age- and training-dependent development of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in heterozygous plakoglobin-deficient mice. *Circulation* 2006; 114:1799–1806.
59. Sen-Chowdhry S, Syrris P, Ward D, et al. 2007. Clinical and genetic characterization of families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy provides novel insights into patterns of disease expression. *Circulation* 115:1710–20
60. Arrhythmogenic Cardiomyopathy: Etiology, Diagnosis, and Treatment Srijita Sen-Chowdhry,^{1,2} Robert D. Morgan,² John C. Chambers,¹ and William J. McKenna² ¹Imperial College, London, United Kingdom; ²Institute of Cardiovascular Science, University College London, United Kingdom.
61. Left-dominant arrhythmogenic cardiomyopathy: an under-recognized clinical entity. Sen-Chowdhry S, Syrris P, Prasad SK, Hughes SE, Merrifield R, Ward D, Pennell DJ, McKenna W J *Am Coll Cardiol*. 2008 Dec 16; 52(25):2175-87.
62. Mutations in the desmosomal protein plakophilin-2 are common in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Gerull B, Heuser A, Wichter T, Paul M, Basson CT, McDermott DA, Lerman BB, Markowitz SM, Ellinor PT, MacRae CA, Peters S, Grossmann KS, Drenckhahn J, Michely B, Sasse-Klaassen S, Birchmeier W, Dietz R, Breithardt G, Schulze-Bahr E, Thierfelder L *Nat Genet*. 2004 Nov; 36(11):1162-4.
63. Arrhythmogenic ventricular cardiomyopathy: A paradigm shift from right to biventricular disease Ardan M Saguner, Corinna Brunckhorst, and Firat Duru *World J Cardiol*. 2014 Apr 26; 6(4): 154–174.
64. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: a review and update. Azaouagh A, Churzidse S, Konorza T, Erbel R *Clin Res Cardiol*. 2011 May; 100(5):383-94.

65. Frequency of supraventricular tachyarrhythmias in arrhythmogenic right ventricular dysplasia. Tonet JL, Castro-Miranda R, Iwa T, Poulain F, Frank R, Fontaine GH *Am J Cardiol*. 1991 May 15; 67(13):1153.
66. Prevalence of atrial arrhythmias in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. Camm CF, James CA, Tichnell C, Murray B, Bhonsale A, te Riele AS, Judge DP, Tandri H, Calkins H *Heart Rhythm*. 2013 Nov; 10(11):1661-8.
67. Circumstances of death and gross and microscopic observations in a series of 200 cases of sudden death associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and/or dysplasia. Tabib A, Loire R, Chalabreysse L, Meyronnet D, Miras A, Malicier D, Thivolet F, Chevalier P, Bouvagnet P *Circulation*. 2003 Dec 16; 108(24):3000-5.
68. Avella A, D'Amati G, Pappalardo A, et al.: Diagnostic value of endomyocardial biopsy guided by electroanatomic voltage mapping in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2008; 19:1127–1134.
69. James CA, Calkins H: Update on arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy (ARVD/C). *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2013; 15:476–487.
70. Two-dimensional echocardiographic detection of arrhythmogenic right ventricular dysplasia. Baran A, Nanda NC, Falkoff M, Barold SS, Gallagher JJ *Am Heart J*. 1982 Jun; 103(6):1066-7.
71. Sudden death in young people with apparently isolated mitral valve prolapse. Corrado D, Basso C, Nava A, Rossi L, Thiene G *Ital Cardiol*. 1997 Nov; 27(11):1097-105.
72. Right ventricular dysplasia with biventricular involvement. Pinamonti B, Pagnan L, Bussani R, Ricci C, Silvestri F, Camerini F *Circulation*. 1998 Nov 3; 98(18):1943-5.
73. Morphologic variants of familial arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy a genetics-magnetic resonance imaging correlation study. Dalal D, Tandri H, Judge DP, Amat N, Macedo R, Jain R, Tichnell C, Daly A, James C, Russell SD, Abraham T, Bluemke DA, Calkins H *J Am Coll Cardiol*. 2009 Apr 14; 53(15):1289-99.

74. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. A review and update. Francés RJ *Int J Cardiol.* 2006 Jun 28; 110(3):279-87.
75. Quantitative assessment of endomyocardial biopsy in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: an in vitro validation of diagnostic criteria. Basso C, Ronco F, Marcus F, Abudurehman A, Rizzo S, Frigo AC, Baucé B, Maddalena F, Nava A, Corrado D, Grigoletto F, Thiene G *Eur Heart J.* 2008 Nov; 29(22):2760-71.
76. The role of endomyocardial biopsy in ARVC: looking beyond histology in search of new diagnostic markers. Asimaki A, Saffitz JE *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2011 Jan; 22(1):111-7.
77. Myocarditis and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a diagnostic challenge Authors: Bergonti Marco, Antonio Dello Russo, Valentina Catto, Alessio Gasperetti, Rita Sicuso, Giulia Vettor, Valentina Ribatti, Fabrizio Tundo, Massimo Moltrasio, Elena Sommariva, Daniele Andreini, Cristina Basso, Andrea Natale, Claudio Tondo, Michela Casella
78. Electroanatomic voltage mapping guided endomyocardial biopsies Authors: Michela Casella c,* , MD PhD, Antonio Dello Russo a,* MD PhD, Marco Bergonti b , MD, Valentina Catto c PhD, Alessio Gasperetti c MD, Giulia Vettor c MD PhD, Fabrizio Tundo c MD PhD, Rita Sicuso c MD, Elena Sommariva d PhD, Stefania Rizzo e MD PhD, Edoardo Conte f MD, Saima Mustaq f MD, Domenico Della Rocca g , Giulio Pompilio b,d MD PhD, Luigi Di Biase h MD PhD, Daniele Andreini f,b MD PhD, Cristina Basso e MD PhD, Andrea Natale g MD FHRS FACC, Claudio Tondo b,c MD PhD FESC,.
79. Santangeli P, Hamilton-Craig C, Russo A Dello, Pieroni M, Casella M, Pelargonio G, Biase L Di, Smaldone C, Bartoletti S, Narducci ML, Tondo C, Bellocchi F, Natale A. Imaging of scar in patients with ventricular arrhythmias of right ventricular origin: cardiac magnetic resonance versus electroanatomic mapping. *J Cardiovasc Electrophysiol United States*; 2011;22:1359–1366.
80. Sudden cardiac death with normal heart: molecular autopsy. Basso C, Carturan E, Pilichou K, Rizzo S, Corrado D, Thiene G *Cardiovasc Pathol.* 2010 Nov-Dec; 19(6):321-5.
81. Familial effort polymorphic ventricular arrhythmias in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy map to chromosome 1q42-43. Baucé B, Nava A,

- Rampazzo A, Daliento L, Muriago M, Basso C, Thiene G, Danieli GA *Am J Cardiol.* 2000 Mar 1; 85(5):573-9.
82. Clinical and electrophysiological differences between patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia and right ventricular outflow tract tachycardia. O'Donnell D, Cox D, Bourke J, Mitchell L, Furniss S *Eur Heart J.* 2003 May; 24(9):801-10.
 83. Differentiating arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy from right ventricular outflow tract ventricular tachycardia using multilead QRS duration and axis. Ainsworth CD, Skanes AC, Klein GJ, Gula LJ, Yee R, Krahn AD *Heart Rhythm.* 2006 Apr; 3(4):416-23.
 84. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death--executive summary: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death) Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. Zipes DP, Camm AJ, Borggrefe M, Buxton AE, Chaitman B, Fromer M, Gregoratos G, Klein G, Moss AJ, Myerburg RJ, Priori SG, Quinones MA, Roden DM, Silka MJ, Tracy C, Blanc JJ, Budaj A, Dean V, Deckers JW, Despres C, Dickstein K, Lekakis J, McGregor K, Metra M, Morais J, Osterspey A, Tamargo JL, Zamorano JL, Smith SC Jr, Jacobs AK, Adams CD, Antman EM, Anderson JL, Hunt SA, Halperin JL, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B, American College of Cardiology/American Heart Association Task Force., European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines., European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Eur Heart J.* 2006 Sep; 27(17):2099-140.
 85. Implantable cardioverter-defibrillator therapy for prevention of sudden death in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. Corrado D, Leoni L, Link MS, Della Bella P, Gaita F, Curnis A, Salerno JU, Igdbashian D, Raviele A, Disertori M, Zanolto G, Verlato R, Vergara G, Delise P, Turrini P, Basso C, Naccarella F, Maddalena F, Estes NA 3rd, Buja G, Thiene G *Circulation.* 2003 Dec 23; 108(25):3084-91.

86. Mutations in the Lamin A/C gene mimic arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Quarta G, Syrris P, Ashworth M, Jenkins S, Zuborne Alapi K, Morgan J, Muir A, Pantazis A, McKenna WJ, Elliott PM *Eur Heart J*. 2012 May; 33(9):1128-36.
87. Epsilon-like waves and ventricular conduction abnormalities in subjects with type 1 ECG pattern of Brugada syndrome. Letsas KP, Efremidis M, Weber R, Korantzopoulos P, Protonotarios N, Prappa E, Kounas SP, Evagelidou EN, Xydonas S, Kalusche D, Sideris A, Arentz T *Heart Rhythm*. 2011 Jun; 8(6):874-8.
88. Cerrone M, Lin X, Zhang M, Agullo-Pascual E, Pfenniger A, Chkourko Gusky H, Novelli V, Kim C, Tirasawadischai T, Judge DP, et al. Missense mutations in plakophilin-2 can cause brugada syndrome phenotype by decreasing sodium current and nav1.5 membrane localization. *Heart Rhythm*. 2013;10:1743.
89. Corrado D, Basso C, Rizzoli G, et al. 2003. Does sports activity enhance the risk of sudden death in adolescents and young adults? *J. Am. Coll. Cardiol*. 42:1959–63
90. Exercise increases age-related penetrance and arrhythmic risk in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated desmosomal mutation carriers. James CA, Bhonsale A, Tichnell C, Murray B, Russell SD, Tandri H, Tedford RJ, Judge DP, Calkins H *J Am Coll Cardiol*. 2013 Oct 1; 62(14):1290-1297.
91. Electrocardiology of 4 cases of right ventricular dysplasia inducing arrhythmia. Frank R, Fontaine G, Vedel J, Mialet G, Sol C, Guiraudon G, Grosogoeat Y *Arch Mal Coeur Vaiss*. 1978 Sep; 71(9):963-72.
92. Imaging of programmed cell death in arrhythmogenic right ventricle cardiomyopathy/dysplasia. Campian ME, Tan HL, van Moerkerken AF, Tukkie R, van Eck-Smit BL, Verberne HJ *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011 Aug; 38(8):1500-6.
93. Diagnostic value of plasma levels of brain natriuretic peptide in arrhythmogenic right ventricular dysplasia. Matsuo K, Nishikimi T, Yutani C, Kurita T, Shimizu W, Taguchi A, Suyama K, Aihara N, Kamakura S, Kangawa K, Takamiya M, Shimomura K *Circulation*. 1998 Dec 1; 98(22):2433-40.

94. ACC/AHA/HRS 2008 Guidelines for device-based therapy of cardiac rhythm abnormalities. Epstein AE, Dimarco JP, Ellenbogen KA, Estes NA 3rd, Freedman RA, Gettes LS, Gillinov AM, Gregoratos G, Hammill SC, Hayes DL, Hlatky MA, Newby LK, Page RL, Schoenfeld MH, Silka MJ, Stevenson LW, Sweeney MO, American College of Cardiology., American Heart Association Task Force on Practice Guidelines., American Association for Thoracic Surgery., Society of Thoracic Surgeons. *Heart Rhythm*. 2008 Jun; 5(6):e1-62.
95. 2012 ACCF/AHA/HRS focused update incorporated into the ACCF/AHA/HRS 2008 guidelines for device-based therapy of cardiac rhythm abnormalities: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. Epstein AE, DiMarco JP, Ellenbogen KA, Estes NA 3rd, Freedman RA, Gettes LS, Gillinov AM, Gregoratos G, Hammill SC, Hayes DL, Hlatky MA, Newby LK, Page RL, Schoenfeld MH, Silka MJ, Stevenson LW, Sweeney MO, American College of Cardiology Foundation., American Heart Association Task Force on Practice Guidelines., Heart Rhythm Society. *Circulation*. 2013 Jan 22; 127(3):e283-352.
96. Prevention of inappropriate ICD shocks in patients with Brugada syndrome. Veltmann C, Kuschyk J, Schimpf R, Streitner F, Schoene N, Borggrefe M, Wolpert C *Clin Res Cardiol*. 2010 Jan; 99(1):37-44.
97. Santangeli P, Dello Russo A, Pieroni M, et al.: Fragmented and delayed electrograms within fibrofatty scar predict arrhythmic events in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: Results from a prospective risk stratification study. *Heart Rhythm Elsevier Inc.*, 2012; 9:1200–1206.
98. Saguner AM, Vecchiati A, Baldinger SH, et al.: Different prognostic value of functional right ventricular parameters in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Circ Cardiovasc Imaging* 2014; 7:230–239.
99. Corrado D, Wichter T, Link MS, et al.: Treatment of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: An international task force consensus statement. *Eur Heart J* 2015; 36:3227–3237.
100. Dynamic substrate mapping and ablation of ventricular tachycardias in right ventricular dysplasia. Zou J, Cao K, Yang B, Chen M, Shan Q, Chen C, Li W, Haines DE *J Interv Card Electrophysiol*. 2004 Aug; 11(1):37-45.

101. Outcomes of catheter ablation of ventricular tachycardia in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. Philips B, Madhavan S, James C, Tichnell C, Murray B, Dalal D, Bhonsale A, Nazarian S, Judge DP, Russell SD, Abraham T, Calkins H, Tandri H *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012 Jun 1; 5(3):499-505.
102. Natural history and risk stratification of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. Hulot JS, Jouven X, Empana JP, Frank R, Fontaine G *Circulation.* 2004 Oct 5; 110(14):1879-84.
103. Prognostic predictors in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: results from a 10-year registry. Pinamonti B, Dragos AM, Pyxaras SA, Merlo M, Pivetta A, Barbati G, Di Lenarda A, Morgera T, Mestroni L, Sinagra G *Eur Heart J.* 2011 May; 32(9):1105-13.
104. Definition and treatment of arrhythmogenic cardiomyopathy: an updated expert panel report. Perry M. Elliott,^{1,*} Aris Anastasakis,² Angeliki Asimaki,³ Cristina Basso,⁴ Barbara Bauce,⁴ Matthew A. Brooke,⁵ Hugh Calkins,⁶ Domenico Corrado,⁴ Firat Duru,⁷ Kathleen J. Green,⁸ Daniel P. Judge,⁹ David Kelsell,⁵ Pier D. Lambiase,¹ William J. McKenna,¹⁰ Kalliopi Pilichou,⁴ Alexandros Protonotarios,¹ Jeffrey E. Saffitz,¹¹ Petros Syrris,¹⁰ Hari Tandri,⁶ Anneline Te Riele,¹² Gaetano Thiene,⁴ Adalena Tsatsopoulou,¹³ and J. Peter van Tintelen^{14,15} *Eur J Heart Fail.* Author manuscript; available in PMC 2019 Aug 7. Published in final edited form as: *Eur J Heart Fail.* 2019 Aug; 21(8): 955–964.
105. Role of Inflammation in Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy: An Evidence Based Review Sandeep Kumar Chavah, Anita James, Altaf Ali, Sairam Manchineel, Calambur Narasimhan, Pratibha Nallari. Dept. of Genetics, University College of Science, Osmania University, Hyderabad-500007, Telangana, India. Department of Cardiology, CARE Hospital, Nampally, Hyderabad, Telangana, India. *Journal of Advances in Life and Natural Sciences*, Vol. 1 (1), 14-22. 2015.
106. Myocarditis and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a diagnostic challenge Authors: Bergonti Marco, Antonio Dello Russo, Valentina Catto, Alessio Gasperetti, Rita Sicuso, Giulia Vettor, Valentina Ribatti, Fabrizio

Tundo, Massimo Moltrasio, Elena Sommariva, Daniele Andreini, Cristina Basso, Andrea Natale, Claudio Tondo, Michela Casella

107. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: evaluation of the current diagnostic criteria and differential diagnosis Domenico Corrado, Peter J van Tintelen, William J McKenna, Richard N W Hauer, Aris Anastakis, Angeliki Asimaki, Cristina Basso, Barbara Bauce, Corinna Brunckhorst, Chiara Bucciarelli-Ducci
108. On behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee, Richards S., Aziz N., et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405–23. Doi: 10.1038/gim.2015.30.
109. Kopanos C., Tsiolkas V., Kouris A., et al. VarSome: the human genomic variant search engine. *Bioinformatics* 2019;35(11):1978–80. Doi: 10.1093/bioinformatics/bty897.
110. HRS/EHRA Expert Consensus Statement on the State of Genetic Testing for the Channelopathies and Cardiomyopathies This Document Was Developed as a Partnership Between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA) 2011 Aug;8(8):1308-39. doi: 10.1016/j.hrthm.2011.05.020.
111. High Prevalence of Myocarditis Mimicking Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy: Differential Diagnosis by Electroanatomic Mapping-Guided Endomyocardial Biopsy, Antonio Dello Russo, Francesca Marzo, Gemma Pelargonio, Michela Casella, Fulvio Bellocchi, Filippo Crea. Accepted 16 November 2008, <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.11.017> Journal of the American College of Cardiology Volume 53, Issue 8, 24 February 2009.
112. Prognostic Value of Magnetic Resonance Phenotype in Patients With Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy Giovanni Donato Aquaro MD^a Antonio De Luca MD^b Chiara Cappelletto MD^b Francesca Raimondi MD^c Francesco Bianco MD^d Nicoletta Botto BSc^a Pierluigi Lesizza MD^b Crysanthos Grigoratos MD, PhD^a Monia Minati MD^e Matteo Dell’Omodarme PhD^f Alessandro Pingitore MD, PhD^g Davide Stolfo MD^b Matteo Dal Ferro MD^b Marco

Merlo MD^b Gianluca Di Bella MD, PhD^h Gianfranco Sinagra MD^b
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.04.023> Journal of the American College of
Cardiology Volume 75, Issue 22, 9 June 2020, Pages 2753-2765

113. Casella M, Pizzamiglio F, Russo A Dello, Carbucicchio C, Al-Mohani G, Russo E, Notarstefano P, Pieroni M, D'Amati G, Sommariva E, Giovannardi M, Carnevali A, Riva S, Fassini G, Tundo F, Santangeli P, Biase L Di, Bolognese L, Natale A, Tondo C. Feasibility of combined unipolar and bipolar voltage maps to improve sensitivity of endomyocardial biopsy. *Circ Arrhythm Electrophysiol* United States; 2015;**8**:625–632.
114. Ishibashi-Ueda H, Matsuyama T-A, Ohta-Ogo K, Ikeda Y. Significance and Value of Endomyocardial Biopsy Based on Our Own Experience. *Circ J* Japan; 2017;**81**:417–426.