



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Scienze Medico-Diagnostiche e Terapie Speciali

DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE, CLINICHE E
SPERIMENTALI
INDIRIZZO SCIENZE CARDIOVASCOLARI
CICLO XXI

*CORRELAZIONE GENOTIPO-FENOTIPO IN PAZIENTI AFFETTI DA
CARDIOMIOPATIA ARITMOGENA DEL VENTRICOLO DESTRO
PORTATORI DI MUTAZIONI DI GENI CODIFICANTI PER LE PROTEINE DI
GIUNZIONE INTERCELLULARE*

Coordinatore : Ch.mo Professore Gaetano Thiene

Supervisor : Ch.mo Professore Andrea Nava

Dott.ssa Barbara Bauce

Dottoranda : Dott.ssa Ilaria Rigato

ANNO ACCADEMICO 2007- 2008

INDICE

Riassunto	5
Abstract	7
INTRODUZIONE	9
Cenni Storici	11
Presentazione Clinica	15
Caratteristiche Patologiche	17
Criteri Diagnostici	21
Aspetti Ecocardiografici	27
Aspetti Elettrocardiografici	33
BASI GENETICHE	37
Genetica delle forme dominanti	41
ARVC e modello desmosomiale	57
SCOPO DELLA TESI	57
MATERIALI E METODI	59
RISULTATI	65
DISCUSSIONE	77
CONCLUSIONI	85
TABELLE E GRAFICI	87
BIBLIOGRAFIA	109

RIASSUNTO

Introduzione: la Cardiomiopatia Aritmogena del Ventricolo Destro (Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy: ARVC) è una malattia ereditaria del muscolo cardiaco, spesso familiare, caratterizzata da un'atrofia miocardica progressiva con sostituzione fibro-adiposa. Il coinvolgimento ventricolare destro è predominante e più evidente ma anche il ventricolo sinistro viene colpito dalla malattia in maniera significativa. Clinicamente si manifesta con aritmie ventricolari che possono portare anche a morte improvvisa. Una recente classificazione molecolare definisce l'ARVC una "Cardiomiopatia delle giunzioni intercellulari" o "Cardiomiopatia Desmosomiale", dato che i geni malattia codificano per proteine delle giunzioni intercellulari (desmosomi e giunzioni adherens) con rimodellamento dei dischi intercalari, così da rendere i miociti più suscettibili allo stress parietale con morte miocellulare e sostituzione fibroadiposa. Gli studi di correlazione genotipo- fenotipo finora eseguiti hanno esaminato il fenotipo dei pazienti portatori dei vari geni malattia, senza tuttavia paragonare gli aspetti clinici di pazienti portatori di mutazioni genetiche a carico di geni diversi.

Scopo dello Studio: lo studio si propone di eseguire una correlazione genotipo- fenotipo in soggetti affetti e nei familiari non affetti dalla malattia, portatori di mutazioni di geni che codificano per le proteine desmosomiali finora identificati nella nostra casistica (Plakofillina-2: PKP2; Desmogleina-2: DSG2; Desmoplachina: DSP)

Materiali e Metodi: abbiamo studiato le famiglie di 38 probandi affetti da ARVC per un totale di 257 soggetti (128 femmine e 129 maschi età media 35 ± 18 anni). I soggetti analizzati sono stati suddivisi in 3 gruppi in base alla alterazione genetica individuata (PKP2, DSP e DSG2); un quarto gruppo comprendeva pazienti portatori di una mutazione multipla (MM). Sono stati

raccolti i dati relativi alla prima visita e all'ultima visita di follow-up. Il protocollo di studio prevedeva l'anamnesi personale e familiare, l'ecocardiografia mono e bidimensionale color Doppler, l'elettrocardiogramma di base, i SAECG (potenziali tardivi ad alta risoluzione), l'ECG Holter delle 24h. In casi selezionati si acquisivano i dati di Risonanza Magnetica Cardiaca.

Risultati: un totale di 170 (51%) soggetti è risultato essere portatore di mutazione genetica. Si trattava di mutazioni della DSP (n.59), PKP2 (n. 46), DSG2 (n.37) e di doppie mutazioni (MM= n.28). Una diagnosi clinica con i criteri della Task Force era possibile nel 48% dei soggetti con mutazione, con una netta prevalenza maschile (M/F 2,8/1). L'analisi dei dati clinico-strumentali mostrava alla prima visita una maggiore estensione della malattia, in termini di dilatazione del ventricolo destro e di interessamento del ventricolo sinistro, nei soggetti portatori di mutazione PKP2 e MM. Durante il follow up i pazienti con mutazione DSP mostravano una maggiore progressione della malattia in particolare a carico del ventricolo sinistro. L'analisi di sopravvivenza non mostrava differenze significative nei pazienti portatori di mutazioni dei diversi geni.

Conclusioni: I dati ottenuti evidenziano delle caratteristiche gene-specifiche dell'ARVC in particolare al grado di dilatazione del ventricolo destro e del coinvolgimento ventricolare sinistro. Tuttavia la prognosi non sembra essere diversa nei portatori di mutazioni di geni diversi. Pertanto al momento attuale la caratterizzazione genetica non modifica l'approccio clinico-diagnostico e la stratificazione del rischio nei pazienti. La diversa espressione clinica della malattia in famiglie portatrici della stessa mutazione suggeriscono che il fenotipo è in larga misura influenzato anche da fattori ambientali.

ABSTRACT

Background: Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy (ARVC) is an inherited primary heart muscle disease characterized by progressive myocardial atrophy and progressive fibrofatty tissue replacement. Familiar occurrence with an autosomal dominant pattern of inheritance and variable penetrance is proven, although recessive forms exist. ARVC affects primarily the right ventricle even if a left ventricular involvement is frequently described. The disease often presents with ventricular arrhythmias that can also lead to sudden death. A recent molecular classification defines ARVC as a “Desmosomal Cardiomyopathy” due to the identification of causative mutations in genes encoding for components of the desmosome, the specialized intercellular junctions that anchor intermediate filaments to the cytoplasmic membrane in adjoining cells. This defect in desmosome components seems to predispose to myocyte detachment and death. Available genotype-phenotype correlation studies analysed the phenotypic features associated with mutations of a single disease-gene, although a comparison among clinical phenotype of patients with mutation on different genes is still missing.

Objectives we sought to provide a detailed analysis of the genotype-phenotype correlation in subjects carrying a causative mutation of the different disease-genes encoding for desmosome components (Plakophilin2-PKP2, Desmoglein2-DSG2, Desmoplakin-DSP, Desmoglein2-DSG2, Multiple mutations-MM)

Materials and Methods a total of 38 families (257 patients-128 women and 129 men- mean age at first evaluation 35 ± 18 years) affected by ARVC and in whom mutations of a known ARVC-gene has been identified were analysed. The study population was divided into 4 groups according to the disease-gene: PKP2 (n=46), DSP (n=37), DSG2 (n=59) and those with MM (n=28). The

instrumental and clinical features detected at first and at last examination were compared. Clinical evaluation included a detailed familial pedigree, medical history, 12-lead ECG, signal-averaged ECG, two-dimensional echocardiography, 24-hour ambulatory ECG monitoring. Moreover, in selected cases a cardiac magnetic resonance with gadolinium injection was performed.

Results: a total of 170 patients was found to carry a mutation in a desmosomal gene (DSP=59, PKP2= 46, DGS2=37,MM=22 had). Moreover, 48% of patients fulfilled the established diagnostic criteria of ARVC (M/F 2,8/1). Analysis of clinical and instrumental data showed a greater extent of the disease in PKP2 and MM groups, defined a larger right ventricular dimensions and more frequent left ventricular involvement. During follow-up patients carrying a DSP mutation showed a greater progression of the disease, with particular regard to the left ventricle. Nonetheless, survival analysis didn't show a significant difference of major events in patients carrying distinct genes mutations.

Conclusions: the study demonstrated the presence of gene-specific features in ARVC patients, with particular regard to right ventricular dilatation and left ventricular involvement. Nevertheless the prognosis doesn't seem to be different among mutation carriers of different genes. Thus the genetic characterization seems not to modify the therapeutic strategies and the risk stratification of patients. Finally, the different clinical expression of this disease in subjects carrying the same mutation suggests a possible role of modifying factor in the clinical phenotype.

INTRODUZIONE

La Cardiomiopatia Aritmogena del Ventricolo Destro (arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: ARVC) è una cardiomiopatia, ovvero una malattia primitiva del muscolo cardiaco, geneticamente determinata, e caratterizzata da un punto di vista anatomopatologico da atrofia miocardica con successiva sostituzione fibro-adiposa. Viene chiamata comunemente “malattia del cuore destro” anche se, grazie alle recenti acquisizioni, è ormai noto che anche ventricolo sinistro è frequentemente coinvolto (57, 86). Da un punto di vista clinico questa malattia è detta “Aritmogena” (7) perché si manifesta tipicamente con aritmie ventricolari ad origine dal ventricolo destro che possono portare a morte improvvisa soprattutto nei giovani e negli atleti (6,12,63,101). . Lo scompenso cardiaco può essere presente nelle forme più avanzate di malattia.

La ARVC è una malattia ereditaria con prevalente trasmissione autosomica dominante e penetranza incompleta (3). Finora sono stati identificati 10 loci cromosomici e 7 geni malattia. Esiste anche una variante (denominata Naxos Disease) trasmessa con modalità autosomica recessiva (34)

La prevalenza stimata della malattia (21) è in maniera approssimativa di 1 caso per 5000 abitanti, nel Veneto la prevalenza varia da 1:2000 a 1:5000 (3). In realtà la reale prevalenza della malattia è sottostimata perché spesso la diagnosi di malattia non è agevole, specie nelle forme lievi di malattia. Inoltre nei casi di malattia con coinvolgimento predominante del ventricolo sinistro, l'ARVC viene erroneamente confusa con una cardiomiopatia dilatativa.

La diagnosi di ARVC è di tipo poliparametrico e considera diverse informazioni clinico-strumentali: l'anamnesi personale e familiare, le alterazioni morfo-funzionali riscontrate con le varie metodiche d'immaging (ecocardiogramma, risonanza magnetica cardiaca, studio elettroanatomico), la caratterizzazione tissutale con biopsia endomiocardica, le anomalie di depolarizzazione e di

ripolarizzazione riscontrate con l'elettrocardiografia di base o con lo studio dei potenziali tardivi ad alta risoluzione (SAECG). I recenti progressi nel campo della ricerca genetica, con l'introduzione dello screening genetico, hanno permesso l'identificazione di soggetti portatori di geni malattia favorendo così un valido aiuto nella diagnosi precoce e nell'identificazione di soggetti ancora clinicamente sani da seguire con attenti programmi di follow-up. (97).

Riguardo la terapia risulta fondamentale il periodico monitoraggio clinico-strumentale dei pazienti affetti e dei familiari, la terapia farmacologia convenzionale antiaritmica (94) offre un valido ausilio nel controllare e nel prevenire eventi aritmici avversi. Lo stile di vita, che contempli l'abolizione di esercizio fisico quale trigger per l'innescò di aritmie pericolose è molto importante .

Accanto alla terapia farmacologica è stata introdotta l'ablazione trans catetere (95), ma non sono ancora univoci gli studi riguardo la sua efficacia in questa malattia. L'impianto del defibrillatore automatico (ICD) è una terapia estremamente efficace nel trattare le aritmie pericolose per la vita e non altrimenti controllabili da una adeguata terapia farmacologica (58)

CENNI STORICI

La prima descrizione di malattia la si deve a Giovanni Maria Lancisi che, nel 1736, nel trattato “De Motu Cordis et Aneurysmatibus”, opera postuma, descrisse la presenza della malattia in quattro generazioni di una famiglia i cui membri presentavano cardiopalmo, scompenso cardiaco, dilatazione ed aneurismi del cuore destro; erano inoltre presenti casi di morte improvvisa nei familiari. ⁽¹⁾

Nel 1961 Dalla Volta *et al.* descrissero il caso di un paziente che presentava una “auricolizzazione” della curva di pressione del Ventricolo destro ovvero, da un punto di vista emodinamico, il ventricolo destro si comportava come l’atrio. ⁽²⁾

Il nome della malattia venne coniato nel 1978 anche se in realtà prima descrizione della malattia e del suo profilo clinico è stata fatta negli anni ottanta.

(3, 6, 102)

Nel 1982 Marcus *et al.* descrissero la malattia in 24 adulti evidenziando le caratteristiche cliniche tipiche della malattia ovvero la presenza di aritmie ventricolari con morfologia a blocco di branca sinistra e quindi ad origine dal ventricolo di destra, la presenza dell’onda epsilon all’elettrocardiogramma di base ed il substrato anatomopatologico della sostituzione fibroadiposa. ⁽¹⁰²⁾

Nel 1988 Nava *et al.* provarono come la malattia si presentasse con una modalità di trasmissione autosomica dominante con penetranza variabile. ⁽³⁾

Sempre nello stesso anno Thiene *et al.* descrissero casi di morti improvvise da sforzo in giovani di età inferiore ai 35 anni con alterazioni istopatologiche tipiche della ARVC. Tali soggetti presentavano stimate elettrocardiografiche tipiche della malattia come l’inversione delle onde T nelle derivazioni precordiali e la presenza di aritmie ventricolari con morfologia a blocco di branca sinistra. ⁽⁶⁾ Da questo momento in poi l’ARVC venne riconosciuta come un’altra importante causa di morte improvvisa soprattutto nei giovani e durante

lo sforzo fisico tanto che nello screening pre partecipazione all'attività sportiva, assieme alla cardiomiopatia ipertrofica, l'ARVC è la patologia che viene ricercata con maggiore accuratezza. (99)

Nel 1994 la Task Force del Working Group delle Cardiomiopatie ha stabilito i criteri per porre diagnosi di malattia (18). Sempre in questo stesso anno veniva individuato, a Padova, da Rampazzo et al il primo locus genetico (ARVD1) nel cromosoma 14q23 (25)

Bisognerà attendere il 1995 perchè la World Health Organization (WHO) riconosca alla Displasia Aritmogena del Cuore Destro il diritto ad essere definita una malattia del miocardio (26)

Nel 2006 è stata proposta dall'American Heart Association una nuova definizione e classificazione delle cardiomiopatie con l'introduzione delle "Channelopatie" ovvero delle malattie dei canali ionici. Secondo questa classificazione la ARVC viene classificata come una cardiomiopatia primitiva di origine genetica. (103)

Nel 2004-2005 è stata proposta una classificazione molecolare che rinomina l'ARVC una "cardiomiopatia delle giunzioni intercellulari" o "cardiomiopatia desmosomiale", in quanto, nella maggior parte dei casi, i geni-malattia codificano per proteine delle giunzioni intercellulari (desmosomi e giunzioni adherens) (40)

Le recenti acquisizioni escludono che l'ARVC sia una malattia esclusivamente del ventricolo destro. Infatti la parte ventricolare destra del cuore verrebbe colpita come la parte sinistra ma darebbe più precocemente manifestazione di sé per ragioni di tipo morfologico- strutturale e biofisico. Infatti la parete muscolare del ventricolo destro è più sottile di quella del ventricolo sinistro, questo comporta che lo stress parietale destro sia maggiore del sinistro (Legge di La Place), l'esercitarsi di tali forze su di un substrato parietale alterato dalla sostituzione fibroadiposa porterebbe alla formazione dei tipici aneurismi nel

cosiddetto “triangolo della displasia” (parete inferiore apicale ed infundibolare) che corrispondono alle zone di minor resistenza del Ventricolo destro (70, 82). Nelle forme più estese e tardive, anche il ventricolo sinistro manifesta il suo coinvolgimento, tipicamente nella parete postero-laterale, mentre il setto è relativamente risparmiato. Più recentemente sono state identificate inoltre forme che colpiscono prevalentemente il ventricolo sinistro e casi di cardiomiopatia aritmogena con coinvolgimento esclusivo del ventricolo sinistro.⁽¹³⁾ Si sente pertanto la comune necessità di sostituire la ormai sorpassata definizione di cardiomiopatia aritmogena del cuore destro per la dizione più semplificativa e meno fuorviante di “cardiomiopatia aritmogena”⁽⁷⁾ Le varie forme di cardiomiopatia aritmogena quindi si potranno classificare in base ai diversi pattern di presentazione: forma classica destra, forma dominante sinistra, e forma biventricolare, e secondo alcuni autori potremo ragionevolmente includere anche forme esclusivamente sinistre (7, 10, 70)

PRESENTAZIONE CLINICA

Frequentemente la malattia si evidenzia clinicamente durante l'adolescenza, tra la seconda e quarta decade di vita. Possiamo suddividere la malattia in quattro fasi ⁽⁶²⁾

1) la fase occulta o silente, caratterizzata dalla presenza di minime anomalie strutturali cardiache, in presenza o meno di aritmie ventricolari. Durante questa fase i pazienti sono asintomatici da un punto di vista clinico e purtroppo la morte improvvisa potrebbe essere la prima e l'ultima manifestazione di malattia (soprattutto nei giovani durante sport competitivi o durante sforzo fisico intenso).

2) la fase del disordine elettrico manifesto, con evidenti alterazioni morfologiche e cinetiche del ventricolo destro e/o sinistro: tale fase si manifesta clinicamente con aritmie ventricolari ad origine dal ventricolo destro spesso scatenate dallo sforzo fisico e non correlate alla presenza o meno di disfunzione ventricolare. Le aritmie ventricolari possono essere extrasistoli ventricolari isolate con morfologia BBsx e, ad asse superiore se originano dalla parete inferiore, mentre ad asse inferiore se originano dall'infundibolo della polmonare. In altri casi le aritmie hanno morfologia tipo blocco di branca destra e ciò succede nelle forme di malattia prevalentemente sinistre. Le aritmie complesse (run di TV sostenuta o non sostenuta) possono presentare caratteristiche di benignità se lente e tardive di pericolosità se precoci e veloci. Un incremento dell'innervazione adrenergica è stata chiamata in causa come fattore "aritmogenico" in quanto favorirebbe l'innescò di tachiaritmie ventricolari soprattutto durante esercizio fisico. In questa fase il paziente solitamente riferisce la presenza di cardiopalmo, dolore toracico atipico o eventi sincopali da sforzo.

3) la fase dello scompenso ventricolare destro secondaria alla perdita progressiva di muscolo cardiaco che compromette la funzione meccanica del cuore. In questa fase il ventricolo sinistro è solitamente preservato (o comunque non dà segni di disfunzione)

4) la fase di insufficienza biventricolare, stadio finale che presenta caratteristiche simili alla cardiomiopatia dilatativa (con problemi di diagnosi differenziale) e che porta ad una insufficienza cardiaca progressiva con instabilità emodinamica tale da richiedere frequentemente un trapianto cardiaco. In questa fase il quadro di instabilità elettrica non è più tipico della cardiomiopatia aritmogena perché le extrasistoli ventricolari potranno originare da diverse regioni ventricolari con polimorfismo extrasistolico. In questa fase altre complicazioni sono le trombosi endocavitarie con elevato rischio tromboembolico e la fibrillazione atriale.

Il meccanismo elettrofisiopatologico principale delle aritmie è il rientro nelle aree della sostituzione fibroadiposa ^(6, 17) Il tessuto necrotico provoca un blocco o un rallentamento unidirezionale nella conduzione dell'impulso elettrico mentre il tessuto sano completa il circuito di rientro. Accanto al meccanismo di rientro riconosciamo anche la presenza di un alterato automatismo delle cellule lesionate. Anche il rimodellamento delle giunzioni gap può portare ad una conduzione eterogenea contribuendo così alla genesi di aritmie nelle fasi occulte.

Diversi stimoli esterni possono provocare esacerbazione dei fenomeni aritmici, come la miocardite. ⁽⁷³⁾

CARATTERISTICHE PATOLOGICHE

Dal punto di vista anatomopatologico, la malattia è caratterizzata da un'atrofia progressiva del miocardio. Tale quadro non è presente fin dalla nascita come nella malattia di Uhl ⁽⁶⁸⁾ (in cui si osserva un mancato sviluppo della muscolatura del ventricolo destro con giustapposizione del foglietto epicardico a quello endocardio) ma inizia verosimilmente verso l'adolescenza.⁽⁶⁹⁾ La capacità di rigenerazione del miocardio è piuttosto limitata e per questo la riparazione avviene per sostituzione fibroadiposa. Il meccanismo di sostituzione fibroadiposa inizia dall'epicardio e, al contrario di quello che succede nella cardiopatia ischemica, procede a fronte d'onda dall'epicardio all'endocardio. A causa dello scarso spessore di parete ventricolare destra la malattia evolve fatalmente con la formazione di aneurismi che si localizzano nel cosiddetto "triangolo della displasia" ovvero nelle aree di minor resistenza di parete (apice, inflow e outflow). L'interessamento di tutte e tre le zone avviene nelle forme estese di malattia, mentre nelle altre forme possono essere interessate solo una o due zone oppure possono essere presenti delle alterazioni segmentarie. ⁽⁵⁾

Bisogna inoltre saper distinguere l' ARVC dalla "adipositas cordis" ovvero dalla fisiologica presenza di grasso intramiocardico anche nel cuore normale a livello della parete antero-laterale ed apicale del ventricolo destro. La presenza d'infiltrazione adiposa non è quindi patognomonica dell'ARVC, dato che un'infiltrazione adiposa significativa è stata documentata in più del 50% di cuori di persone normali anziane ed anche in altre situazioni clinico-patologiche. ⁽⁶⁷⁾ Sono state identificate inoltre, forme di ARVC in cui non c'è la presenza di sostituzione adiposa, come la sindrome di Carvajal. ^(82, 90)

Da un punto di vista istologico si evidenzia una severa atrofia del miocardio sostituita dalla componente fibroadiposa, in particolare distinguiamo due

pattern, uno prevalente adiposo ed uno fibroadiposo. Infiltrati infiammatori possono essere presenti nelle aree di danno miocardico e sono stati segnalati nel 75% delle autopsie cardiache (73) Il riscontro di quadri infiammatori ha fatto ipotizzare un ruolo di virus cardiotropici quali fattori ambientali nell'insorgenza e nella progressione della malattia, ma in realtà non vi è ancora la certezza se il fenomeno infiammatorio sia causato da un processi infettivo, se sia un epifenomeno legato alla morte cellulare, se sia la conseguenza di un processo autoimmunitario o se sia secondario all' esposizione a fattori tossici (17, 70, 73)

E' stato proposto che la modalità di morte miocellulare sia quella "programmata" ovvero la morte che avviene per apoptosi, anche se il reale meccanismo biochimico sottostante è ancora poco chiaro (28)

La sostituzione fibroadiposa è considerata un fenomeno riparativo. I miociti, cellule prive di un turnover sufficiente a controbilanciare la morte cellulare, lasciano spazi vuoti che sono colmati da adipociti, provenienti verosimilmente da precursori specifici simil-fibroblastici o fibroblasti modificati, e da fibroblasti sintetizzanti collagene. Difetti in certe vie di segnalazione (come la via Wnt/b-catenina), potrebbero avere un ruolo nella transdifferenziazione di certe cellule cardiache in adipociti e "giocare" un ruolo importante nella patogenesi della ARVC. Il processo sostitutivo, per ragioni non note, procede dall'epicardio all'endocardio, di solito risparmiando il subendocardio. La biopsia endomiocardica riveste quindi un ruolo molto importante perché permette la dimostrazione "in vivo" della sostituzione fibroadiposa del miocardio. In realtà la sensibilità di questo test è bassa in quanto, per scongiurare il rischio di perforazione della parete micardica ventricolare destra, i prelievi vengono effettuati a livello settale, sede che spesso è risparmiata dalla malattia. Uno studio di Angelini et al ha individuato dei criteri istomorfometrici che permettono una diagnosi istologica di malattia con un'alta accuratezza diagnostica in presenza di una quota di miociti inferiore al 45%.⁽⁷⁷⁾

Basso e coll nel 2006 hanno dimostrato che, all'analisi ultrastrutturale con la microscopia elettronica, i pazienti affetti da ARVC e con mutazione dei geni che codificano per proteine di giunzione intercellulare, presentano un rimodellamento dei dischi intercalari con una riduzione del numero dei desmosomi e con un allargamento degli spazi intercellulari. (40)

CRITERI DIAGNOSTICI:

La diagnosi clinica di ARVC è complessa perché a tutt'oggi non esiste un unico test diagnostico che sia sufficientemente sensibile e specifico da escludere o confermare la presenza di malattia. Senza dubbio sono risultati di valido aiuto nella identificazione di malattia i recenti progressi nelle tecniche di imaging cardiaco (soprattutto con la risonanza magnetica cardiaca) e i progressi nella genetica molecolare.

Sulla base di queste considerazioni possiamo dire che a tutt'oggi la diagnosi d'ARVC è di tipo pluriparametrica ovvero tiene conto di diversi parametri:

1. Anamnesi personale e familiare accurata (con particolare riguardo alla presenza di morti improvvise e/o sincopi o lipotimie nel gentilizio e nell'individuo sottoposto ad indagine)
2. ECG a 12 derivazioni
2. Test ergometrico
3. ECG secondo Holter 24h
4. ECG ad alta amplificazione per la ricerca dei potenziali tardivi (SAECG)
5. Ecocardiografia mono- bidimensionale color Doppler
6. Studio angiografico
7. Risonanza magnetica cardiaca con gadolinio
8. TAC (multidetectorCT)
9. Scintigrafia miocardica
10. Biopsia endomiocardica
11. Studio elettrofisiologico e mappaggio elettroanatomico tridimensionale (CARTO)
10. Screening genetico

Nel 1994 una Task Force del Working Group "Myocardial and Pericardial Disease" delle Società Europea di Cardiologia e dell'Internazional Society and Federation of Cardiology ha formulato i criteri diagnostici per la diagnosi di ARVC. ⁽¹⁸⁾ Sono stati identificati dei criteri maggiori e minori che considerano:

1. Anomalie strutturali e funzionali,
2. Caratterizzazione tissutale delle pareti
3. Anomalie di depolarizzazione/conduzione
4. Anomalie della ripolarizzazione
5. Aritmie
6. Storia Familiare.

Sulla base di questa classificazione la diagnosi di cardiomiopatia aritmogena viene fatta quando siano presenti: 2 criteri maggiori o 1 maggiore e 2 minori o 4 minori, appartenenti a gruppi diversi.(figura I)

I limiti di tali criteri sono essenzialmente legati alla:

- esclusione del ventricolo sinistro come indicatore della presenza di malattia (in particolare la Task Force aveva escluso le forme che presentassero una riduzione della funzione ventricolare sinistra)
- valutazione qualitativa, soggettiva ed operatore- dipendente, delle immagini ecocardiografiche del ventricolo destro: mancano infatti una definizione e/o quantificazione dei parametri citati nelle varie categorie (esempio: non esiste una definizione standardizzata di “dilatazione moderata” del ventricolo destro)

- la biopsia endomiocardica, per la caratterizzazione tessutale, viene eseguita solitamente nel setto interventricolare che è raramente colpito dalla malattia
- La sostituzione fibroadiposa è “spotty” per cui il prelievo può essere fatto in una parte di miocardio sano adiacente a quello malato (falso negativo)

Si sente quindi la necessità di nuovi criteri diagnostici che si avvalgano anche delle nuove acquisizioni nel campo della risonanza magnetica nucleare e della genetica.

FIGURA I: CRITERI DIAGNOSTICI DI ARVC DA MCKENNA ET AL. (40)

	CRITERI MAGGIORI	CRITERI MINORI
ANOMALIE STRUTTURALI O FUNZIONALI***	<ol style="list-style-type: none"> dilatazione severa e riduzione della FE del VDx in assenza o solo lieve interessamento del VSx presenza di aneurisma localizzato del VDx (aree acinetiche o discinetiche con bulging diastolico) severa dilatazione segmentaria del VDx 	<ol style="list-style-type: none"> dilatazione lieve globale del VDx e/o riduzione della FE con VS normale dilatazione lieve segmentaria del VDx ipocinesia regionale del VDx
CARATTERIZZAZIONE TISSUTALE DELLE PARETI	sostituzione fibroadiposa del miocardio dimostrata alla biopsia endomiocardica	
ECG ANOMALIE DI DEPOLARIZZAZIONE/ CONDUZIONE	<ol style="list-style-type: none"> durata del complesso QRS > 110 msec in V₁ o V₂ o V₃ onda epsilon in V₁ o V₂ o V₃ 	1. presenza di potenziali tardivi al SAECG
ECG ANOMALIE DI RIPOLARIZZAZIONE		1. inversione di onde T in V ₁ , V ₂ e V ₃ (in età maggiore di 12 anni) in assenza di bbdx
ARITMIE		<ol style="list-style-type: none"> TV con morfologia BBsx (sostenuta o non sostenuta) all'ECG, Holter o durante prova da sforzo BEV frequenti (> 1000/24 ore all'Holter)
STORIA FAMILIARE	1. storia familiare di ARVC confermata con biopsia o autopsia	<ol style="list-style-type: none"> storia familiare di morte improvvisa giovanile (età < 35 anni) da sospetta ARVC storia familiare di ARVC basata sulla presenza degli esami clinico-strumentali con questi criteri

Legenda: VDx = ventricolo destro; VSx = ventricolo sinistro; FE = frazione di eiezione; TV = tachicardia ventricolare; SAECG = elettrocardiogramma ad alta risoluzione; BEV = battiti ectopici ventricolari; BBdx = blocco di branca destra; BBsx = blocco di branca sinistra; ***dimostrate all'ecocardiografia, angiografia, RMN, scintigrafia

Nel 2002 sono stati proposti dei nuovi criteri per la diagnosi della ARVC nei familiari di pazienti affetti (79). In base a questa classificazione la diagnosi di cardiomiopatia aritmogena viene fatta quando sia presente un familiare di primo grado di un paziente affetto da ARVC che presenti almeno uno dei 4 criteri descritti in figura II.

FIGURA II: CRITERI DIAGNOSTICI MODIFICATI PER LA DIAGNOSI DI ARVC FAMILIARE (79)

ECG	Inversione delle onde T nelle derivazioni precordiali destre (V2 e V3)
SAECG	Presenza di potenziali tardivi
ARITMIE	-TV tipo BBsx documentato al ECG, monitoraggio Holter o durante test ergometrico - >200 BEV in 24 ore al monitoraggio Holter
ANOMALIE STRUTTURALI O FUNZIONALI DEL VD	- dilatazione lieve globale del VDx e/o riduzione della FE con normale VSx -dilatazione lieve segmentaria del VDx -ipocinesia regionale del VDx

Legenda: VDx = ventricolo destro; VSx = ventricolo sinistro; FE = frazione di eiezione; TV = tachicardia ventricolare; BEV = battiti ectopici ventricolari; BBsx = blocco di branca sinistra

ASPETTI ECOCARDIOGRAFICI

Lo strumento ideale per la valutazione morfofunzionale del ventricolo destro è l'ecocardiogramma trans-toracico bidimensionale, in virtù della sua facile reperibilità, il suo basso costo, la non invasività, la ripetibilità, l'economicità, e la disponibilità nei vari centri. E' una metodica di facile esecuzione ed interpretazione che può essere usata anche in pazienti portatori di ICD. ⁽¹⁰⁴⁾

Il principale limite è che si tratta di una metodica operatore-dipendente e i criteri diagnostici definiti nel 2004 sono criteri soggettivi, non quantificabili per descrivere le anomalie del Ventricolo destro. Anomalie regionali o globali morfo-funzionali del ventricolo destro sono un importante componente dei criteri diagnostici. Nello studio della ARVC, purtroppo, non vi sono criteri standardizzati per la valutazione sia qualitativa che quantitativa dei diversi parametri considerati nella malattia. Inoltre la storia naturale ecocardiografica non è stata ancora definita

Ricordiamo inoltre che il ventricolo destro, a differenza del sinistro si trova in una posizione più sfavorevole alla visualizzazione ecocardiografica perché situato in sede retro sternale ⁽¹⁰⁵⁾. Inoltre la geometria del ventricolo destro è più complessa: per questo si utilizzano più piani tomografici per dare una valutazione globale del ventricolo. L'ecocardiografia ha un ruolo chiave per la valutazione dei pazienti sospetti con ARVC non solo in fase di diagnosi ma anche e soprattutto nel follow-up. ⁽¹¹⁰⁾

La complessità della forma cavitaria del ventricolo destro è stata superata dall'uso di molteplici piani tomografici: (figura 3,4)

1. parasternale asse lungo del cuore sinistro con la visualizzazione del tratto di efflusso ventricolare destro RVOT1 figura (a). L'RVOT1 si misura dalla parete libera anteriore del ventricolo destro al lato destro del setto interventricolare.

2. parasternale asse corto con la visualizzazione della valvola tricuspide
3. apicale quattro camere con la misurazione delle dimensioni del ventricolo destro LAX=diametro lungo assiale del ventricolo destro misurata dal centro dell'annulus tricuspide all'apice
SAX= misura trasversale calcolata dalla parete libera laterale del ventricolo destro alla faccia destra del setto interventricolare, tale misura si prende nel punto di passaggio tra i 2 terzi inferiori e il terzo superiore del ventricolo destro
RVIT3= tratto di afflusso ventricolare destro misurato a livello dell'annulus tricuspide. Figura (f)
4. sottocostale quattro camere che permette di valutare soprattutto la dinamica dell'apice ventricolare destro.
5. parasternale asse lungo del cuore destro con la visualizzazione del tratto di afflusso ventricolare destro (RVIT1) figura (b) e della cinetica della parete posteriore medio-basale del ventricolo destro.
6. proiezione del tratto di efflusso destro (RVOT)
7. parasternale asse corto a livello della radice aortica con misurazione dell'RVOT4 e del rapporto RVOT4/Radice aortica figura(e)

Il volume del ventricolo destro viene calcolato con la formula di Levine ⁽¹⁰⁶⁾; si tratta di un metodo biplanare area-lunghezza, in cui le misurazioni vengono fatte su due piani ortogonali (proiezione apicale quattro camere e sottocostale asse corto del tratto di efflusso). La funzione ventricolare destra può successivamente essere ricavata dai volumi telediastolico e telesistolico ($FE = VTD - VTS / VTS$)

Queste misurazione, a causa dell'alto numero di variabili introdotte, operatore-dipendente hanno come limite la scarsa riproducibilità ed affidabilità.

Una metodica che consente di ridurre la percentuale di errore è il calcolo dell'area telediastolica, telesistolica con il calcolo della frazione di accorciamento

n metodo per valutare il grado di disfunzione sistolica ventricolare destra è l'analisi quantitativa del movimento del anulus tricuspidalico durante la sistole (TAPSE). E' stato infatti dimostrato che la discesa dell'anello tricuspide è altamente sensibile e specifica per identificare pazienti con infarto emodinamicamente significativo ed è predittore di esito infausto nei pazienti con miocardite. Il TAPSE si ottiene dalla proiezione apicale quattro camere usando M-mode, bidimensionale o DTI (105). Dal momento che il ventricolo destro non si contrae in simmetricamente attorno ad un asse, è importante che le alterazioni della cinetica parietale segmentaria vengono ricercate su diverse proiezioni(107);. La metodica del color- Doppler permette di quantificare la pressione ventricolare destra e ed il rigurgito della tricuspide (105). Le caratteristiche ecocardiografiche suggestive di ARVC sono:

1. dilatazione diffusa del ventricolo destro, con aumento dell'area sia telesistolica che telediastolica. È un reperto comune nei pazienti affetti da cardiomiopatia aritmogena. Questo reperto può creare problemi di diagnosi differenziale in atleti allenati, ma anche in altre malattie che provocano dilatazione del ventricolo destro. (8)

2. dilatazioni localizzate delle dimensioni cavitare nel tratto di afflusso, efflusso o corpo del ventricolo destro. Sulla base dei dati ecocardiografici ottenuti dal Registro Nord-Americano della ARVC, è stato osservato che il 100% dei probandi aveva una dilatazione del tratto di efflusso del ventricolo destro nella proiezione parasternale asse lungo (RVOT1). Un RVOT1 > 30 mm ha una sensibilità dell'89% e una specificità dell'84% per la diagnosi di malattia (108)

Nel nostro laboratorio viene anche usato il rapporto tra l'RVOT4 ed il diametro della valvola aortica nella proiezione parasternale asse corto. Se maggiore di 1.2 è suggestivo di dilatazione dell'infundibolo.

3. alterazioni della funzione globale del ventricolo destro. Abbiamo già ricordato che il calcolo esatto della frazione di eiezione è di difficile attuazione, per la geometria sfavorevole del ventricolo destro. Invece il calcolo della frazione di accorciamento calcolata dalla proiezione parasternale asse lungo permette una quantificazione più accurata della funzione ventricolare destra (Lang Recommendations for chamber quantification. J Am Soc Echocardiogr 2005)

4. Anomalie dalle cinetica e morfologiche regionali:

- aree discinetiche o acinetiche (parete anteriore-libera, inferiore-sottotricuspidalica, apicale, di efflusso-RVOT)
- bulging, sacculazioni o piccoli aneurismi

5. dissarangiamento trabecolare (trabecole eccessive o anormali)

6. banda moderatrice ispessita, iperriflettente-iperecogena o densa.

L'analisi con Doppler tissutale dimostra, invece, le seguenti alterazioni: una riduzione della velocità anulare sistolica (Sa) e di quella diastolica precoce del ventricolo destro (Ea); inoltre, anche il rapporto Ea/Aa e quindi tra la velocità diastolica precoce (Ea) e quella tardiva (Aa) è significativamente ridotto ⁽¹⁰⁹⁾

Da considerare inoltre che la valutazione complessiva del cuore deve tenere conto anche delle eventuali alterazioni della cinetica del ventricolo sinistro, con particolare attenzione della parete postero-inferiore che è una sede frequentemente colpita dalla malattia.

FIGURA 3: PROIEZIONI ECOCARDIOGRAFICHE PER IL VENTRICOLO DESTRO

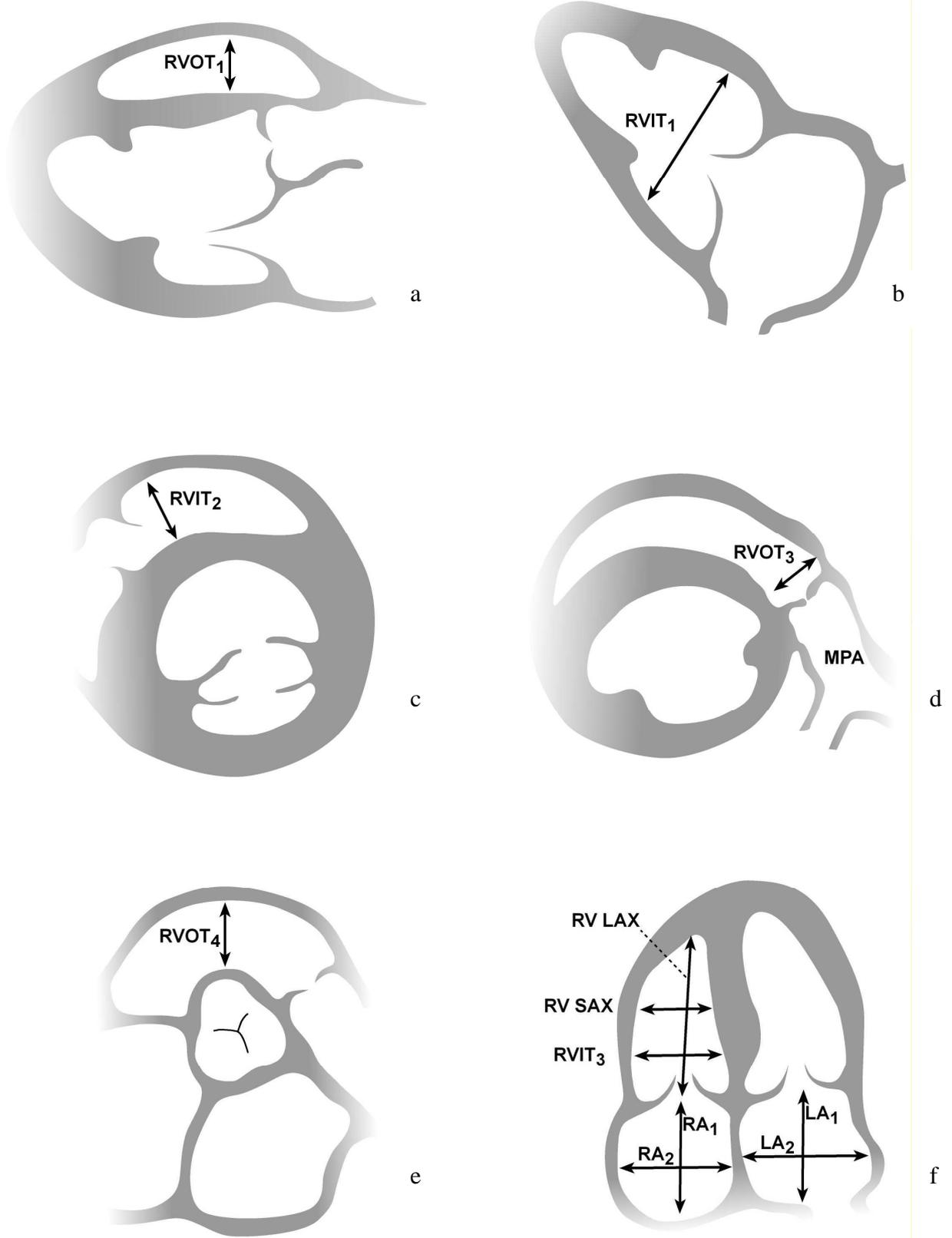
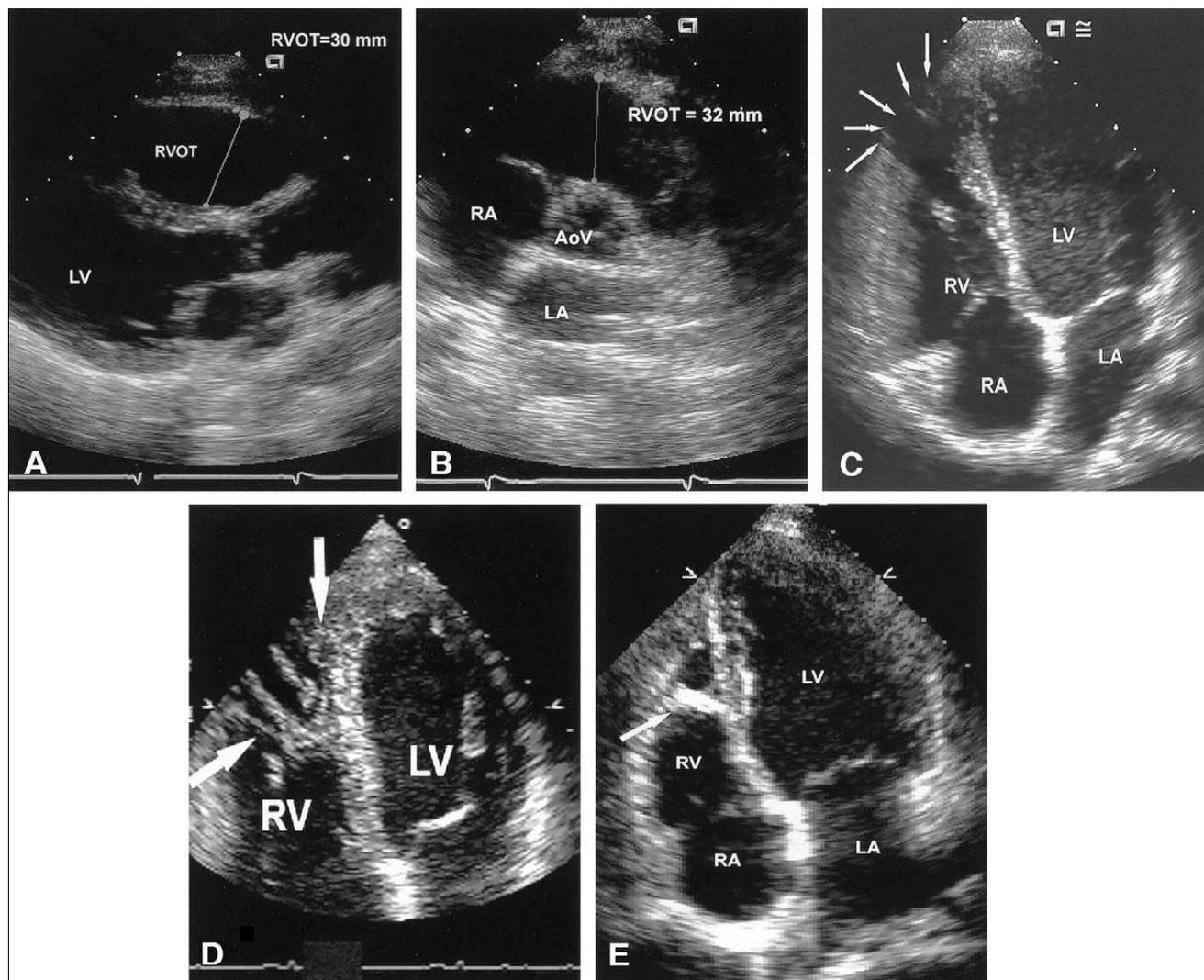


FIGURA 4: IMMAGINI ECOCARDIOGRAFICHE DI UN PROBANDO AFFETTO DA ARVC



A) Allargamento del tratto di efflusso ventricolare destro visto dalla proiezione lungo assiale (RVOT1)

B) Allargamento del tratto di efflusso ventricolare destro visto dalla proiezione parasternale asse corto (RVOT4)

C) Quattro camere apicale con la visualizzazione di un aneurisma apicale

D) Quattro camere apicale con la visualizzazione di dissarrangiamento trasecolare

E) Quattro camere apicale con banda moderatrice iperriflettente

BREVI ASPETTI ELETTROCARDIOGRAFICI

Le alterazioni elettrocardiografiche sono le prime alterazioni cliniche che vengono ricercate nella maggior parte dei pazienti con il sospetto di malattia aritmogena. Infatti, nonostante le moderne acquisizioni nel campo dell'imaging l'elettrocardiogramma a 12 derivazioni (ECG) mantiene un ruolo cruciale e insostituibile in fase diagnostica, in fase di quantificazione della malattia ed in fase di follow-up. E' una metodica non invasiva, economica, ripetibile e confrontabile. Nelle forme conclamate di ARVC le anomalie elettrocardiografiche possono arrivare fino al 90%, viceversa nelle forme occulte o localizzate di malattia l'elettrocardiogramma può anche non mostrare alcun tipo di alterazioni. ⁽¹¹⁸⁾. I criteri diagnostici, sono stati suddivisi in minori e maggiore in base alla loro specificità. Per questo la presenza di un onda T invertita sulle precordiali destre (V1-V3), in giovani con un età superiore a 12 anni e in assenza di blocco di branca di destra, è un criterio minore, mentre la presenza d'onda epsilon o il prolungamento localizzato ($>0 = 110\text{msec}$) del complesso QRS nelle precordiali destre (V1-V3) sono dei criteri maggiori, perché più specifici. L'elettrocardiogramma sospetto per ARVC si ha in presenza di

1. onde T negative nelle derivazioni precordiali oltre V2
2. onda epsilon
3. allungamento del complesso QRS in V1-V3.

1. Onde T negative nelle derivazioni precordiali: l'onda T negativa nelle precordiali destre è un aspetto frequente della malattia e considerato uno dei criteri minori. Mentre nei bambini è normale il reperto di un'onda T negativa in V1-V3, tale aspetto scompare nell'adulto poiché il campo elettrico sinistro

prevale sul destro. L'inversione delle onde T nelle precordiali è considerato un criterio minore perché non è specifico visto dal momento che si riscontra anche può riscontrare in altre condizioni. L'estensione delle onde T negative oltre V32 è in relazione con il grado di severità della malattia. In uno studio è stata riscontrata una correlazione diretta tra l'estensione delle onde T negative sulle precordiali destre e la dilatazione del ventricolo destro e qui veniva ipotizzato che le variazioni della morfologia dell'onda T fossero legate allo spostamento del ventricolo sinistro posteriormente, secondario alla dilatazione del ventricolo destro. Onde T negative presenti in V5-V6 sono un segno indiretto d'interessamento del ventricolo sinistro. Più le onde T negative, si estendono sulle precordiali, maggiore sembra essere il rischio aritmico. Onde T negative sono state riportate anche nelle derivazioni inferiori, ma il loro significato è ancora da chiarire.

2. Onda epsilon: l'onda epsilon: è un'onda distinta, di basso voltaggio, localizzata nel tratto ST immediatamente dopo il complesso QRS visualizzabile di solito nelle precordiali destre. Tale onda suggerisce una ritardata attivazione ventricolare (post-eccitazione) delle aree affette del ventricolo destro ed è anche l'espressione dei potenziali tardivi. Ha una alta specificità per la diagnosi di ARVC, anche se è stata descritta anche nella sarcoidosi. Tale onda è stata riportata in letteratura in una percentuale variabile tra 4 e 35%.

3. Allungamento del complesso QRS: questo allungamento riflette la ritardata attivazione del ventricolo destro secondaria al processo di sostituzione fibroadiposa. Verosimilmente hanno un ruolo anche altri fattori, come la disfunzione delle gap junctions. Per esempio nella malattia di Naxos, il rimodellamento delle giunzioni gap è sufficiente a causare una conduzione lenta che può contribuire al ampliamento del complesso QRS nelle precordiali destre. Si segnala inoltre che in alcuni pazienti il prolungamento del QRS si presenta con aspetto di blocco di branca destra variabile da completo ad incompleto. Il

blocco di branca destra incompleto è stato segnalato in una percentuale di 14%, ma in certi studi raggiunge anche il 40%. Il blocco di branca destra completo può essere presente in percentuale variabile da 4-8% (in certi studi raggiunge anche il 22%) ed in certi studi è associato con coinvolgimento del ventricolo destro diffuso ed insufficienza cardiaca mono- o bi ventricolare.⁽¹⁰⁴⁾

BASI GENETICHE DELLA CARDIOMIOPATIA ARITMOGENA

La Cardiomiopatia Aritmogena appartiene al gruppo delle cardiomiopatie primitive di origine genetica, con una prevalenza stimata nella popolazione generale compresa tra 1: 2000 a 1: 5000. Nel 30-50% dei casi si tratta di un disordine eredo-familiare. In realtà questa percentuale è sottostimata perché:

- spesso la malattia è clinicamente silente
- spesso la storia familiare dei pazienti è difficilmente analizzabile in maniera accurata (mancano informazioni sufficientemente dettagliate dei familiari)
- la penetranza della malattia è ridotta (stimata da alcuni studi inferiore al 20%)
- si analizzano famiglie di piccole dimensioni che possono dare la falsa impressione di un disordine sporadico
- ci sono fenotipi “frusti”, non specifici di malattia quindi non si effettua diagnosi di malattia.
- bassa sensibilità degli attuali mezzi diagnostici

La forma classica e più frequente si presenta in modo autosomico dominante a penetranza incompleta, che porta alla presenza di soggetti portatori di mutazione e clinicamente affetti accanto ad individui portatori di mutazione ma senza diagnosi clinica di malattia, detti “portatori sani”. Inoltre il fenotipo, ovvero la manifestazione clinica della malattia, è variabile, ovvero può essere presente sia in forma grave che in forma moderata o lieve, sia in termini di alterazione anatomica che di instabilità elettrica.

Come sopra ricordato inoltre, la malattia è geneticamente eterogenea. Il primo locus genico della ARVC venne mappato nel 1994 nel cromosoma 14q23 da Rampazzo et al. Da allora in poi sono stati mappati diversi loci per ARVC in 9

cromosomi (1, 2, 3, 6, 10, 12, 14, 17 e 18). A partire dal 1998 sono stati identificati 8 geni coinvolti e diverse mutazioni geniche, responsabili della ARVC sia in forma dominante che in forma recessiva. I geni che sono stati identificati possono essere suddivisi in 3 gruppi distinti:

1. il gene che codifica per il recettore rianodinico (RyR2)
2. il gene che codifica per il fattore di crescita trasformante (TGFβ3)
3. cinque geni che codificano per le proteine desmosomiali:
 - plakofillina-2 (PKP2)
 - desmoplakina (DSP)
 - desmogleina-2 (DSG2)
 - desmocollina-2 (DSC2)
 - plakoglobina (JUP)

Da un punto di vista cronologico, le tappe che hanno portato alla scoperta di mutazioni in geni- malattia causativi della ARVC in forma dominante si possono così riassumere:

- 2001 Tiso e coll scoprono le prime quattro mutazioni a carico del recettore rianodinico (RyR2), responsabili di una forma particolare di cardiomiopatia legata ad alterata omeostasi del calcio (ARVC2) e caratterizzata dalla presenza di aritmie ventricolari polimorfe indotte dallo sforzo ⁽⁴¹⁾
- 2002: Rampazzo e coll individuano in una famiglia affetta una mutazione del gene che codifica per la Desmoplakina (DSP) (ARVC8) ⁽³⁶⁾
- 2004: Gerull e coll identificano le prime mutazioni della plakofillina-2, (ARVC9). ⁽³⁶⁾
- 2005 Beffagna e coll identificano il fattore di crescita trasformante (TGFβ3) come causa di ARVC1. ⁽⁴²⁾

- 2006 Pilichou e coll identificano le prime mutazioni nella desmogleina (DSG-2) in una serie di pazienti affetti (ARVC10) ⁽³⁸⁾
- 2006: Syrris e coll hanno identificato le prime mutazioni della desmocollina 2 (DSC-2) in alcuni pazienti affetti, la malattia viene denominata ARVC11. ⁽³⁹⁾
- Nel 2007 viene scoperta da Asimaki e coll una forma dominante di ARVC associata ad una mutazione inserzionale della plakoglobina, in assenza di anomalie cutanee. ⁽¹¹¹⁾

Sono state inoltre identificate cinque mutazioni che provocano delle forme di ARVC con ereditarietà di tipo recessivo sui geni che codificano le proteine giunzionali desmoplakina, plakoglobina e ultimamente anche plakofillina-2. Di seguito riportiamo in ordine cronologico le tappe che hanno portato alla identificazione delle mutazioni:

- Nel 2000 McKoy e coll hanno identificato per prima volta la mutazione di un gene che codifica per la plakoglobina (JUP) e le cui mutazioni provocano una forma recessiva di ARVC detta Malattia di Naxos, associata a capelli ricci e cheratosi palmo-plantare. ⁽³⁵⁾
- Nel 2000 Norgett e coll hanno scoperto una mutazione del gene della desmoplakina in pazienti affetti da una particolare forma di cardiomiopatia presente in un'altra sindrome cardiocutanea detta Sindrome di Carvajal ⁽⁸⁹⁾
- Nel 2003 Alcalai e coll hanno individuato una mutazione missenso nella desmoplakina associata ad una sindrome cardiocutanea autosomica recessiva simile alla Sindrome di Naxos, ma con un disordine cutaneo istologicamente simile al pemfigoide fogliaceo. ⁽⁴⁴⁾
- Nel 2006 Uzumcu e coll hanno scoperto una mutazione nonsense, che

colpisce esclusivamente la desmoplakina provocando una patologia cardiocutanea recessiva simile a quella della malattia Naxos e Carvajal con un severo coinvolgimento biventricolare (45)

- Nel 2006 Award e coll hanno scoperto una mutazione nel gene della plakofilina-2 che causa una ARVC recessiva senza coinvolgimento cutaneo (50)

- Nel 2007 è stata scoperta da Asimaki e coll una forma dominante di ARVC associata ad una mutazione inserzionale della plakoglobina, in assenza di anomalie cutanee. Tale mutazione è stata identificata in una famiglia tedesca. (111)

BASI GENETICHE DELLE FORME DOMINANTI

ARVC1

La Cardiomiopatia aritmogena di tipo 1 è una cardiomiopatia con trasmissione di tipo autosomico dominante causata da una mutazione nel gene transforming growth factor beta 3 (TGF β 3) il cui locus si localizza sul cromosoma 14q23-q24. Le mutazioni in questo locus porterebbero ad una sovra espressione del TGF β 3 che è una citochina che ha il compito di stimolare la produzione delle componenti della matrice extracellulare. E' stato dimostrato che la fibrosi miocardica viene stimolata dalla presenza del TGF β 3. La fibrosi quindi distruggerebbe la continuità elettromeccanica del miocardio predisponendo alla formazione di aritmie ventricolari da rientro. Si ipotizza inoltre che questa citochina regoli anche la stabilità delle giunzioni intercellulari, in presenza quindi di una alterata presenza di TGF β 3 si potrebbe verificare un danno nell'adesione cellula-cellula con successivo distacco miocitario, morte e riparazione fibroadiposa. ⁽⁴²⁾

ARVC2

La cardiomiopatia aritmogena di tipo 2 è una cardiomiopatia con ereditarietà di tipo autosomico dominante nella quale la sostituzione fibroadiposa tipica della ARVC è meno pronunciata e si localizza preferibilmente all'apice del ventricolo destro, sono stati anche dimostrati depositi di fosfato di calcio. Il tratto distintivo di questa malattia è la presenza di aritmie polimorfe indotte dallo sforzo. Il gene coinvolto nella ARVC2 è quello che codifica per il recettore rianodinico che è uno dei geni più estesi del genoma umano (conta infatti ben 105 esoni) ed è situato sul cromosoma 14q42.1-q43. ⁽⁴¹⁾ Tutte le mutazioni finora individuate nei pazienti affetti da ARVC2 sono

“missenso” e coinvolgono amminoacidi situati in punti critici della proteina in regioni che sono state altamente conservate durante l’evoluzione. Il recettore (figura 5) rianodinico cardiaco (RyR2) è un omotetramero composto da 4 monomeri proteici RyR assemblati per formare un complesso contenente un canale che rilascia il calcio. Questo canale è situato nella membrana delle cisterne terminali del reticolo endoplasmatico e si trova in stretta prossimità con il recettore diidropiridinico dei canali lenti del calcio, situato invece nella membrana sarcoplasmatica del sistema dei tubuli T. ⁽¹¹²⁾

Questo canale ha un ruolo chiave nella omeostasi intracellulare di calcio e nel meccanismo di accoppiamento eccitazione- contrazione dei miociti cardiaci. Ogni canale di calcio lento controlla un cluster di 6-20 canali rilascianti calcio. In risposta alla depolarizzazione di membrana si aprono i canali lenti del calcio e questa piccola quantità di calcio ne induce un rilascio molto più grande da parte del complesso del recettore rianodinico (RyR2) che inizia la contrazione. Questo processo aumenta la concentrazione intracitoplasmatica del calcio di 10 volte. Il rilassamento si realizza attraverso il ri-sequestro del calcio all’interno del reticolo sarcoplasmatico e la sua emissione al di fuori del sarcolemma. ⁽¹¹²⁾

Il recettore rianodinico contiene anche una regione che si estende dalla membrana verso i tubuli T (denominata foot-region) dove sono localizzate numerose proteine regolatorie chiave (fosfatasi, chinasi, FKBP-506 e altre) che si pensa siano deputate alla coordinazione dell’apertura di canali rianodinici adiacenti che stabilizzano il complesso. (figura 1)

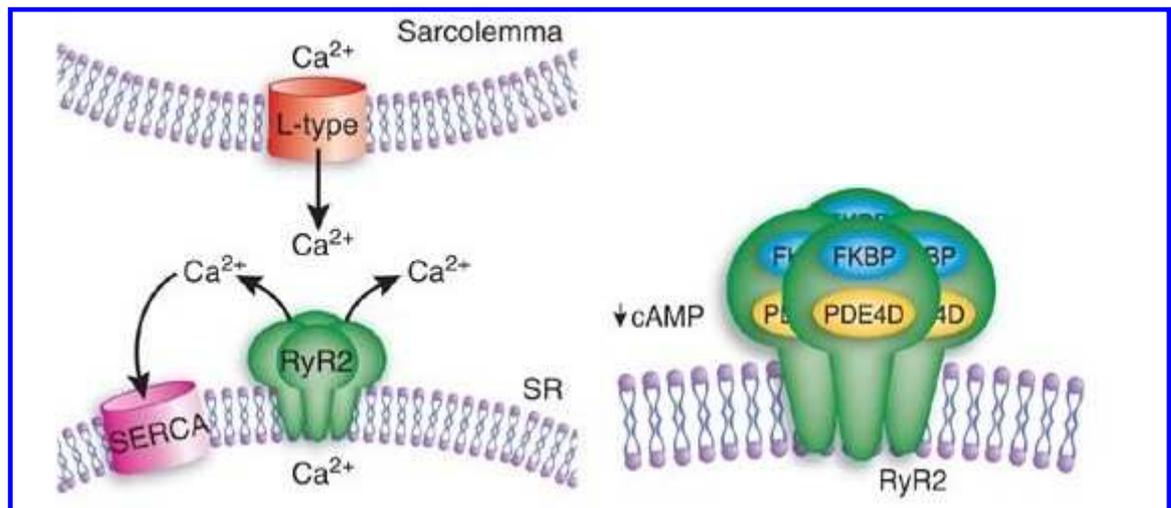


Figura 5 : recettore rianodinico (RyR2)

L'ARVC2 è caratterizzata da un fenotipo clinico particolare con presenza di aritmie polimorfe indotte da sforzo e anche da stati emozionali intensi. La prima descrizione di questa forma di ARVC la si deve a Nava e coll. el 1988. (3)

Caratteristiche distintive della malattia sono le aritmie polimorfe indotte dallo sforzo, la morte improvvisa giovanile, l'alta penetranza e il rapporto M: F 1: 1. Si pensa che le mutazioni missenso vadano ad alterare la capacità della maggioranza dei canali di calcio a rimanere chiusi. Quindi in presenza di stress meccanico si crea un un massivo rilascio di calcio dal reticolo. Inoltre l'alterata omeostasi del calcio intracellulare potrebbe indurre l'apoptosi e/o necrosi esitando in una cardiomiopatia in un sottogruppo dei pazienti. L'esercizio fisico inducendo un aumento della frequenza cardiaca e un sovraccarico di volume aggraverebbe l'alterato meccanismo di rilascio del calcio presente in questi pazienti agendo quindi da trigger nel processo degenerativo e nella instabilità elettrica. Si segnala che anche altre mutazioni del RyR2 provocano le aritmie polimorfe da sforzo, ma in assenza di una malattia strutturale. L'osservazione che in una famiglia, l'ARVC2 e la TV polimorfa catecolaminergica coesistono suggerisce che le due entità corrispondono all'espressione fenotipica delle stessa

malattia. (43, 93)

ARVC3

Il gene responsabile di questa forma di cardiomiopatia non è ancora stato identificato. Il locus genico si trova invece localizzato nel cromosoma 14 nella porzione denominata 14q12-q22 dal gruppo di Severini et coll. che hanno studiato 3 famiglie affette da ARVC provenienti da 3 discendenze diverse (Italia, Slovenia e Belgio) (119)

ARVC4

Il locus genico di questa forma di cardiomiopatia è stato mappato da Rampazzo et coll. nel cromosoma 2q32.1-q32.3. I membri affetti da ARVC4 appartenevano a 3 famiglie e mostravano manifestazioni cliniche tipiche con diagnosi fatta seguendo i criteri diagnostici di McKenna et coll del 1994. Il gene responsabile di questa forma di malattia non è ancora stato identificato (120)

ARVC5

Il locus della ARVC5 è stato identificato nel cromosoma 3p23 da Ahmad et coll in una grande famiglia del Nord America. Sulla base di un modello murino si è ipotizzato che il gene responsabile sia il LAMR1 (gene per il recettore della laminina1). Uno studio in vitro ha evidenziato che cardiomiociti mutati per LAMR1 mostravano una morte accelerata accompagnata da una alterazione dell'architettura della cromatina. (121)

ARVC6

Il locus responsabile di questa forma di malattia si trova nel cromosoma 10p14-p12 e 10p13-p14. Il gene responsabile sarebbe una proteina tirosin fosfatasi che media la de fosforilazione della fosfotirosina e sembra essere implicata nella

trasduzione di segnali legati all'accrescimento e differenziazione cellulare e alla trasformazione neoplastica. Li e coll. Hanno descritto questa forma di malattia in una famiglia del Nord America con modalità di trasmissione autosomica dominante ad alta penetranza e con presentazione precoce. (122)

ARVC7

Il locus coinvolto nella ARVC7 mappa nel cromosoma 10q22.3 ed è definita una “desmin related myopathy” caratterizzata dalla presenza di aggregati intrasarcoplasmatici di desmina. A livello cardiaco la mutazione del gene che codifica per la desmina si caratterizza per la presenza di blocchi di conduzione cardiaca, aritmie e cardiomiopatia restrittiva. E' stata riportata una trasmissione autosomica dominante con età di presentazione variabile e variabile grado di coinvolgimento cardiaco. Melberg e coll. hanno descritto 12 casi di una famiglia svedese affetta da cardiomiopatia e miopatia, di questi 3 presentavano le stimate di cardiomiopatia aritmogena con dilatazione del ventricolo destro, tachicardie ventricolari non sostenute. Un familiare affetto e deceduto in questa famiglia presentava al riscontro diagnostico sostituzione fibroadiposa del ventricolo destro.

ARVC8

La cardiomiopatia aritmogena 8 è causata dalla mutazione nel gene che codifica per la desmoplakina (DSP). La desmoplakina è stato il primo gene individuato, legato ad una forma autosomica dominante di ARVC. Infatti nel 2002 Rampazzo e coll. descrivevano la mutazione missenso in una famiglia con le tipiche manifestazione cliniche di cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro. Questa mutazione modifica un sito putativo di fosforilazione nell'estremità N-terminale della desmoplakina, che lega la plakoglobina. Il locus genico coinvolto è nel cromosoma 6p24. A tutt'oggi sono state individuate 5

mutazioni dominanti e 2 mutazioni recessive nel gene della desmoplakina che portano al troncamento all'estremità N-terminale o C-terminale della proteina e che si manifestano clinicamente con fenotipi distinti: (36, 44, 55, 86)

Disordine cutaneo autosomico dominante (cheratoderma palmo-plantare striata) in assenza di coinvolgimento cardiaco

- Forma dominante di ARVC senza malattia cutanea
- Forma autosomica recessiva (con mutazione in omozigosi) si manifesta con un fenotipo cutaneo molto simile alla Sdr.di Naxos: capelli ricciuti, cheratoderma ma con un più precoce coinvolgimento del ventricolo di sinistra che evolve in una forma di cardiomiopatia dilatativa e scompenso cardiaco.(Sindrome di Carvajal). In questa forma viene distrutto il sito di legame della desmina alla estremità C-terminale della desmoplakina. (89)
- Cardiomiopatia aritmogena con prominente coinvolgimento del ventricolo sinistro, denominata "cardiomiopatia aritmogena del ventricolo sinistro" (ALVC) poichè il coinvolgimento del ventricolo sinistro precede lo sviluppo di significativa disfunzione del ventricolo destro. In questa forma le aritmie originano dal ventricolo sinistro (86)
- E' stato evidenziato da alcuni studi che quando la mutazione provoca un troncamento della desmoplakina all'estremità N-terminale a livello del sito di legame della plakoglobina, il fenotipo clinico della malattia è tipico con coinvolgimento del ventricolo destro e le classiche alterazioni elettrocardiografiche e strutturali (55). Quando invece la proteina viene troncata alla estremità C-terminale all'interno della lamina densa dei desmosomi, il fenotipo vede un coinvolgimento maggiore del ventricolo di sinistra. (86) In realtà queste evidenze devono ancora essere dimostrate in maniera adeguata.

ARVC9

Questa forma di ARVC, denominata ARVC9, è causata da una mutazione in eterozigosi nel gene che codifica per la plakofillina-2 (PKP2), che è una armadillo proteina dei desmosomi cardiaci, che sono strutture complesse multi proteiche delle membrane cellulari che hanno la funzione di provvedere alla integrità strutturale e funzionale delle cellule adiacenti (cardiomiociti e cellule epiteliali). Il locus genico si trova sul cromosoma 12p11.2. In seguito alla identificazione della PKP2 da parte di Gerull e coll. del 1994, sono state scoperte altre mutazioni nello stesso gene da altri gruppi di studio. La maggior parte delle mutazioni sono state identificate all'estremità C-terminale della molecola. Le plakofilline hanno un ruolo essenziale nella formazione e funzione dei desmosomi e probabilmente l'assenza della plakofillina-2 o l'incorporazione di plakofillina-2 mutante può danneggiare i contatti cellula-cellula, portando a distacco dei cardiomiociti soprattutto come risposta allo stress meccanico. La distruzione intercellulare avviene prevalentemente nelle aree sottoposte ad alto "stress e stretch" quindi a livello del triangolo della displasia.

Gerull et coll ⁽³⁷⁾ e Syrris et coll ⁽³⁹⁾ hanno evidenziato che il fenotipo legato alla mutazione della plakofillina è caratterizzato da un maggiore coinvolgimento del ventricolo destro con sostituzione fibroadiposa del miocardio

ARVC10

Nel 2006 sono state identificate le prime mutazioni nella DSG-2 da Pilichou e coll ⁽³⁸⁾ e la malattia è stata denominata ARVC10. Sette delle nove mutazioni identificate erano localizzate nella regione aminotermine, che partecipa direttamente nell'interazione d'adesione. E' possibile che anche una sostituzione aminoacidica possa portare a differenze molecolari d'affinità e possibilmente abolire le capacità adesive delle caderine. Questo porterebbe a danneggiamento dell'adesione cellula-cellula, distacco miocitario, morte e riparazione

fibroadiposa. Gli studi ultrastrutturali in tre pazienti hanno dimostrato un diminuito numero di desmosomi ed un ampliamento dello spazio intercalare delle giunzioni, inoltre l'istologia in cinque pazienti ha dimostrato atrofia miocardica e sostituzione fibroadiposa. In seguito sono state descritte altre mutazioni dello stesso gene. Il fenotipo cardiaco legato alla mutazione della desmogleina si manifesterebbe tipicamente con un coinvolgimento maggiore del ventricolo destro e sostituzione fibroadiposa (38)

ARVC11

Questa forma di cardiomiopatia aritmogena definita ARVC11 è causata da una mutazione sul gene che codifica per la desmocollina2 (DSC2) sul cromosoma 18q21. La mutazione dominante della DSC-2 identificata porta ad un prematuro troncamento della proteina desmocollina che, priva della sequenza CAR localizzata nel primo dominio EC1, risulta danneggiata e non funzionalmente attiva. Infatti la proteina mutata non sarebbe più in grado di legare i componenti trans membrana e citoplasmatici. Il fatto che i pazienti portatori di mutazioni delle caderine non presentino anomalie cutanee potrebbe essere spiegato dal fatto che nell'epidermide l'assenza della DSC2 o DSG2 è compensata dalle DSC1 e DSC 3 e DSG1 e DSG 3 rispettivamente, compenso che avviene solo nell'epidermide ma non nel miocardio

ARVC E MODELLO DESMOSOMIALE

A tutt'oggi si ritiene che la cardiomiopatia aritmogena sia una malattia dei desmosomi, questo spiegherebbe non solo le manifestazioni cardiache ma anche le manifestazioni extracardiache che troviamo nelle forma sindromiche.

A differenza delle cellule muscolari scheletriche che si fondono a formare sincizi multi nucleati, i cardiomiociti sono cellule mononucleate tenute assieme da strutture specializzate dette “dischi intercalari” che mediano l'accoppiamento elettro-meccanico. Infatti queste strutture non solo uniscono una cellula con la successiva connettendo i filamenti di actina alle miofibrille delle cellule adiacenti ma anche permettono al potenziale d'azione di diffondere rapidamente da una cellula alla successiva, sincronizzando così la contrazione dei cardiomiociti.

I dischi intercalari a loro volta sono formati da tre tipi di connessioni cellula-cellula:

- | | | |
|-----------------------|---|---|
| 1) Gap junctions | | responsabili dell'accoppiamento elettrico |
| 2) Adherens junctions | } | responsabili dell'accoppiamento meccanico |
| 3) Desmosomi | | |

1)La funzione delle gap junctions è quella di mediare il trasferimento di ioni attraverso la membrana cellulare. Ciascuna giunzione è formata da due emicanali detti “connessioni” che si localizzano a livello trans membrana di cellule adiacenti. I connessioni sporgono da ciascuna superficie cellulare, tenendo le membrane plasmatiche ad una distanza fissa l'una dall'altra e da ciò deriva il nome “gap” che vuol dire intervallo. Un connesone è composto da un anello costituito da 6 subunità proteiche dette connessine. La conessina 43 (Cx43) è il principale sottotipo nel cuore umano. Altre connessine (Cx40 e 45)

sono anche espresse, ma in livelli inferiori ⁽¹³⁾ (figura 6)

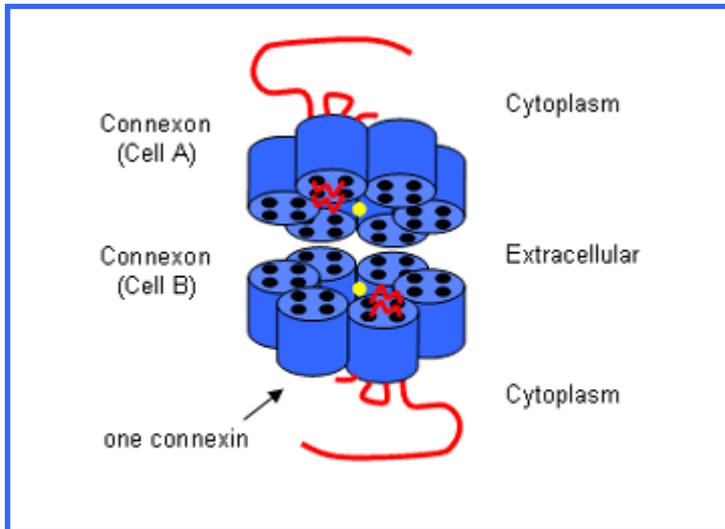


Figura 6 : struttura della Gap Junctions

2)Le adherens junctions permettono invece la trasmissione di forza contrattile tra cardiomiociti adiacenti e sono formati da una porzione transmembrana che prende contatti con le cellule adiacenti che è una caderina (glicoproteina calcio dipendente), la cui isoforma predominante espressa nel cuore umano è l’N- caderina e legata alla sua coda citoplasmatica troviamo una beta-catenina e la plakoglobina (gamma-catenina). Poi la gamma e la beta catenina legandosi all’alfa-catenina si legano direttamente ai microfilamenti di actina contenuti nel sarcomero ^(13, 91). Grazie alla presenza di queste giunzioni il miocardio è in grado di lavorare come un sincizio per la forte adesione cellula-cellula che è mediata dal complesso caderine/catenine che si legano direttamente al citoscheletro d’actina. (figura 7)

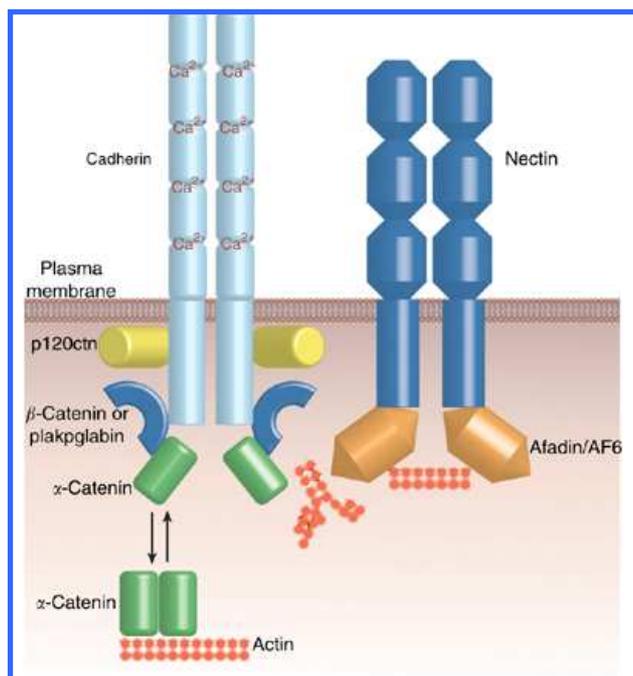


Figura 7 : struttura delle Adherens Junctions

3)I desmosomi (figura 8) condividono con le adherens junctions il compito di provvedere al contatto meccanico tra le cellule ma a differenza delle giunzioni aderenti, i desmosomi non si legano alla rete di actina ma ai filamenti intermedi di desmina nel cuore e di keratina nella cute. Le giunzioni aderenti e i desmosomi sono particolarmente abbondanti nei tessuti sottoposti ad intense sollecitazioni meccaniche, come il muscolo cardiaco e l'epitelio cutaneo. Hanno una funzione principale nell'adesione cellulare mediante la connessione degli elementi del citoscheletro di una cellula con l'altra, permettendo così al tessuto di funzionare come unità strutturale. In particolare ciascuna metà di ogni desmosoma si connette all'altra metà della cellula adiacente quindi la desmina di ogni cellula è in contiguità con quella della cellula adiacente. In questo modo formano un reticolo senza soluzione di continuità che si dirama nel tessuto, con la principale funzione di fornire la forza tensile, ammortizzando le sollecitazioni meccaniche e ponendo resistenza alle forze che agiscono per interrompere la adesività cellula-cellula.

Le proteine che si assemblano per formare i desmosomi appartengono a tre famiglie distinte e separate:

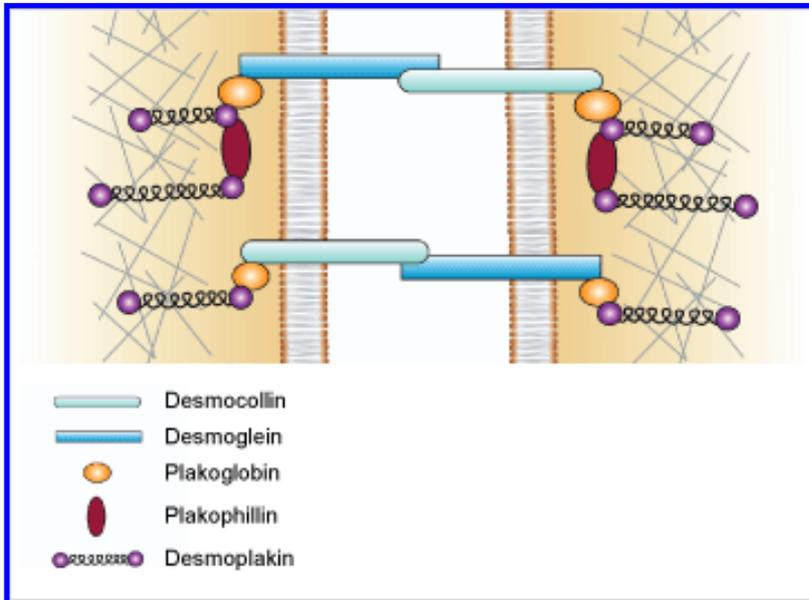


Figura n° 8 Desmosoma :

CADERINE DESMOSOMIALI (desmogleina e desmocollina)

ARMADILLO PROTEINE(plakoglobina e plakofillina)

PLAKINE (desmoplakina)

1)Le caderine desmosomiali sono glicoproteine transmembrana calcio-dipendenti composte dalle desmogleine (DSG1-4) e dalle desmocolline (DSC1-3), ambedue codificate da una piccola famiglia multigenica situata nel cromosoma 18. Nelle caderine si riconoscono tre domini funzionali:

- un dominio extracellulare aminotermine, calcio-inducibile, che contiene quattro subdomini extracellulari altamente conservati (EC1-EC4), importante per interazioni intercellulari omofiliche, seguito da un altro dominio extracellulare variabile d'ancoraggio (EA). Il legame del calcio ai domini EC è importante per la stabilizzazione della loro struttura e funzione. Al primo dominio extracellulare delle caderine è presente una sequenza altamente conservata (CAR: cell adhesion-recognition)

importante per le interazioni eterofiliche tra le cellule.

- un singolo dominio transmembrana
- un subdominio intracellulare, che ancora il citoscheletro, tramite interazioni complesse con le varie proteine intracitoplasmatiche (86)

Le caderine desmosomiali si interfacciano con la loro componente extracellulare in maniera diretta con la rispettiva controparte delle cellule vicine. Con la loro porzione intracellulare invece interagiscono con la armadillo proteine plakoglobina e la plakofillina-2, che a loro volta interagiscono con la desmoplakina, che crea i siti di legame per i filamenti intermedi. Queste interazioni sono essenziali per il processo d'adesione. Le caderine, non hanno solamente un ruolo di adesione, ma anche un ruolo regolatorio sulla morfogenesi tessutale e possono inoltre partecipare in processi intracellulari di segnalazione (52) . Si ritiene che possano agire come sensori molecolari regolando il comportamento cellulare e traducendo dei segnali cellulari: DSG2 e DSC2 sono espresse ubiquitariamente nei tessuti contenenti desmosomi (39, 52)

2)La famiglia delle Armadillo proteine è caratterizzate da un dominio centrale con un numero variabile di motivi ripetuti composti da 42 aminoacidi ciascuno, ognuno dei quali serve per l'interazione con le varie proteine (117). Alla famiglia delle armadillo proteine appartengono la plakofillina-2, la plakoglobina, la b-catenina ed altre proteine. La plakofillina-2 e la plakoglobina si trovano nella parte esterna della placca densa dei desmosomi ed hanno funzioni simili, legando l'estremità N-terminale della desmoplakina e C-terminale delle caderine (113). La plakofillina-2 si trova in due isomorfe da splicing alternativo (2a e 2b) ed è la plakofillina prevalente nel cuore. (37). La plakofillina lega le caderine desmosomiali con le desmoplakine e i filamenti intermedi, conferendo integrità strutturale e funzionale alle cellule adiacenti. Interagisce, inoltre, con molte altre proteine di adesione cellulare. La

plakoglobina (o gamma-catenina) si trova sia nei desmosomi che nelle giunzioni adherens ed è l'unica proteina conosciuta comune alle due giunzioni. Sembra avere un ruolo particolarmente importante nello stabilizzare questi complessi, nelle funzioni adesive tra le cellule e nelle interazioni con il citoscheletro: la sua funzione a livello dei desmosomi è quella di fungere da collegamento tra la desmoplakina e le caderine, si viene così a creare un "bridge" indiretto tra caderine e filamenti di desmina ⁽³⁷⁾. Nelle giunzioni adherens invece la plakoglobina interagisce con le caderine trasmettendo segnali di adesione ed ancora le giunzioni direttamente al citoscheletro di actina ⁽⁹¹⁾. La plakoglobina inoltre è coinvolta nelle vie dell'apoptosi

3)Le plakine sono una famiglia di proteine "linker", che si associano agli elementi citoscheletrici e ai complessi giunzionali "orchestrando" così lo sviluppo cellulare e mantenendo l'integrità cellulare. Numerose plakine sono espresse in tessuti che sono sottoposti a stress meccanici (come epiteli e muscoli), dove hanno un importante ruolo per l'integrità tissutale, legando i filamenti citoscheletrici e ancorandoli alla membrana plasmatica. Alla famiglia appartengono la desmoplakina, l'epiplakina, la periplakina, l'envoplakina, la plectina e la MACF che si accomunano strutturalmente per il fatto di avere due domini comuni ⁽¹¹⁵⁾. La desmoplakina si trova nella parte interna della placca densa ed è la proteina più abbondante dei desmosomi, è formata da 2.871 amminoacidi ed è un omodimero contenente 3 domini: Un dominio all'estremità C-terminale, globulare, un dominio centrale a bacchetta, coiled-coil, che riunisce le due α -eliche ed un dominio dell'estremità N-terminale sempre globulare ⁽³⁶⁾. Si possono trovare due isomorfe prodotte dallo stesso gene da splicing alternativo e che differiscono soltanto per la lunghezza del dominio centrale ⁽¹¹⁵⁾. L'estremità C-terminale ha l'importante funzione di legarsi con la desmina. L'estremità N-terminale ha un ruolo nel suo ancoraggio, la sua localizzazione nella placca e nella interazione con le proteine vicine (desmoplakina,

plakoglobina, plakofillina), legandosi così indirettamente con le caderine. Le sue due estremità hanno anche un ruolo nella regolazione dell'assemblaggio e organizzazione del complesso desmosomiale (115, 114). Ricordiamo inoltre che i geni che codificano per le proteine desmosomiali sono modulati da citochine. Il fattore di crescita trasformante TGFβ3 è un membro della famiglia dei fattori di crescita TGF, vasto gruppo di citochine regolatorie con effetti pleiotropici, che giocano un ruolo importante nello sviluppo e omeostasi tessutale. I TGFβ stimolano le cellule mesenchimali a proliferare e a produrre componenti della matrice extracellulare. Il TGFβ3 infatti produce una risposta di fibrosi in vari tessuti in vivo, promuovendo l'espressione di geni per la matrice extracellulare e sopprimendo l'attività di geni che codificano per le metalloproteinasi della matrice, coinvolte alla degradazione della matrice extracellulare. E' stato dimostrato che i TGFβ modulano l'espressione di geni, che codificano le proteine desmosomiali in vari tipi cellulari, potendo quindi influire sulla stabilità delle giunzioni tra cellula e cellula. I TGFβ3 quindi stimola la fibrosi e modula la adesione cellulare (42)

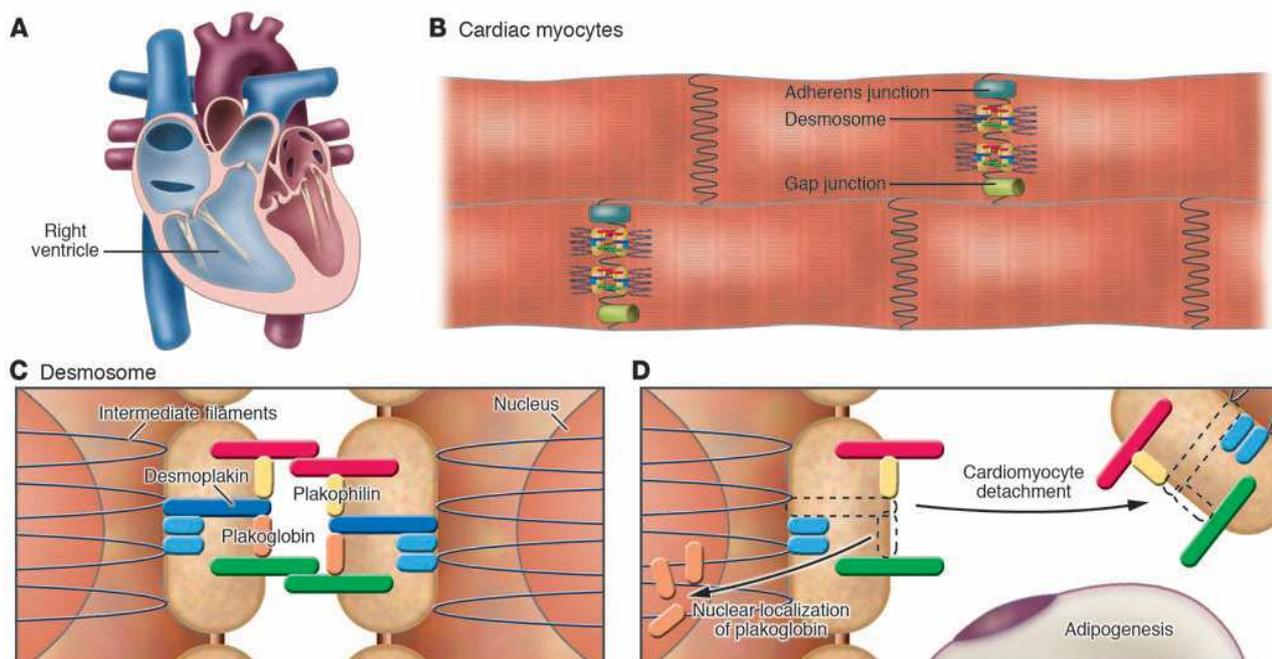


Figura 9: b) i dischi intercalari composti da gap junctions, adherens junctions e desmosomi c) adesione intercellulare mediata dai componenti desmosomiali d) in questo caso il deficit di desmoplakina comporta il distacco miocitario

Le mutazioni di plakoglobina, plakofillina-2, desmoplakina-1, desmogleina-2, desmocollina-2 e la loro alterata modulazione da parte del TGF β -3 portano al danneggiamento della funzione desmosomiale, rendendo tali strutture più vulnerabili allo stress meccanico. Anche se tutte le cellule miocardiche esprimono la mutazione specifica, sono più vulnerabili le aree miocardiche più sottili e più sollecitate, dove prevale il danno. L'aumentata distensibilità della parete sottile del ventricolo destro e soprattutto delle porzioni più sottili rappresentate dal triangolo della displasia, creano una tensione parietale maggiore in tali sedi rispetto ad altre. Anche quando è coinvolto il ventricolo sinistro il danno prevale nella parete postero-inferiore rispetto al setto. Le condizioni d'aumentato stress (figura 9 D) provocherebbero il distacco e la morte cellulare ed il danno miocardico sarebbe spesso accompagnato da infiammazione. Il processo sarebbe poi seguito da riparazione prevalentemente fibro-adiposa.

SCOPO DELLA TESI

La cardiomiopatia aritmogena è una causa riconosciuta di morte improvvisa, soprattutto giovanile. La diagnosi clinica di malattia è spesso difficile sia nei casi indice ma ancora di più nei familiari a causa della variabilità fenotipica che la caratterizza. Nell'ultimo decennio alcuni gruppi di studio sono riusciti ad identificare diversi geni-malattia che codificano per la maggior parte per componenti strutturali dell'apparato desmosomiale.

Alcuni studi di correlazione genotipo-fenotipo hanno dimostrato una correlazione gene specifica di malattia. Sen-Chowdry et coll ⁽¹³⁾ hanno evidenziato che le mutazione della desmoplakina sarebbero legate ad una forma di malattia con prominente coinvolgimento del ventricolo sinistro, denominata "cardiomiopatia aritmogena del ventricolo sinistro". Inoltre Dalal et coll ⁽⁴⁶⁾ hanno dimostrato che le forme di malattia legate a mutazione sul gene della PKP2 presentavano una maggiore gravità del quadro clinico con una maggiore estensione di malattia.

Il nostro studio si propone di eseguire uno studio di correlazione genotipo-fenotipo in un'ampia casistica di pazienti portatori di mutazione genetica con un follow-up ampio in modo da evidenziarne le eventuali caratteristiche gene-specifiche sia in termini di manifestazioni clinico-strumentali, che in termini di progressione di malattia.

MATERIALI E METODI

Popolazione di studio: La popolazione di individui studiati contava 257 membri di cui 129 maschi e 128 femmine (età media alla prima visita 35 ± 18 anni). I probandi erano 38 e tutti soddisfacevano i criteri diagnostici della Taske Force del 1994 per la diagnosi di ARVC. Tutti gli individui sono stati sottoposti a prelievo ematico per screening di genetica molecolare. Le mutazioni screenate sono state per i 5 geni desmosomiali finora individuati come geni responsabili di malattia: plakofillina2, desmoplakina, plakoglobina, desmocollina2 e desmogleina 2. In base alle mutazioni individuate in ciascun soggetto si sono definiti 4 gruppi di pazienti che sono stati valutati sia alla prima visita che all'ultima visita del programma di follow-up (la durata media del follow-up è stata di $7,3\pm 3$ con un range di durata dai 2 a 15 anni):

- I° gruppo: pazienti con mutazione nel gene plakofillina2
(46 pazienti M/F 27/19 età media alla I^a visita 41 ± 20)
- II° gruppo: pazienti con mutazione nel gene per la desmoplakina
(59 pazienti M/F 31/28 età media alla I^a visita 49 ± 29)
- III° gruppo: pazienti con mutazione nel gene per la desmogleina2
(37 pazienti M/F 14/23 età media alla I^a visita 34 ± 19)
- IV° gruppo. Pazienti con Multipla Mutazione
(28 pazienti M/F 15/13 età media alla I^a visita 59 ± 16)

Non tutti i pazienti presenti alla prima visita hanno poi seguito il nostro programma di follow-up, che avveniva a cadenza semestrale o annuale. Quindi i gruppi all'ultima visita di follow up erano così ripartiti:

- I° gruppo: pazienti con mutazione nel gene plakofillina2

- (31 pazienti M/F 18/13 età media alla visita 45±18)
- II° gruppo: pazienti con mutazione nel gene per la desmoplakina
(40 pazienti M/F 21/19 età media alla visita 36±19)
- III° gruppo: pazienti con mutazione nel gene per la desmogleina2
(20 pazienti M/F 10/10 età media alla visita 40±20)
- IV° gruppo. Pazienti con Multipla Mutazione
(22 pazienti M/F 14/8 età media alla visita 47±10)

Protocollo di studio: I pazienti venivano valutati con un protocollo di studio non invasivo che prevedeva una accurata anamnesi familiare e personale, esame clinico, compilazione del pedigree familiare, elettrocardiogramma a riposo a 12 derivazioni, ecocardiogramma trans toracico mono e bidimensionale con color Doppler, ECG ad alta amplificazione per la ricerca dei potenziali tardivi (SAECG) ai filtri 25- 40- 80Hz, ECG Holter delle 24/h. I pazienti venivano suddivisi in affetti, non affetti e portatori sani in base ai criteri diagnostici della Task Force del 1994 e/o secondo i criteri modificati per i familiari. In casi selezionati i pazienti sono stati sottoposti a Risonanza magnetica nucleare cardiaca.

Parametri clinici: la sintomatologia veniva accuratamente valutata seguendo questi parametri diagnostici:

la sincope veniva definita come improvvisa perdita di coscienza, associata a perdita del tono posturale con recupero spontaneo dello stato di coscienza, in assenza di sintomi prodromici e situazioni che potessero far pensare ad un sindrome vaso- vagale.

Lo scompenso cardiaco veniva definito quando presente secondo la classificazione NYHA III-IV

La tachicardia ventricolare veniva definita in presenza di più di 3 battiti ad una frequenza superiore ai 120b/m, la tachicardia ventricolare veniva considerata sostenuta quando la durata era superiore ai 30secondi.

ECG secondo Holter delle 24 ore le aritmie ventricolari venivano considerate significative quando vi era:

- 1) numerosità dei battiti ectopici superiori alle 1000/24h
- 2) una tachicardia ventricolare non sostenuta (> 3 battiti consecutivi ad una frequenza superiore a 120bpm,
- 3) tachicardia ventricolare sostenuta (della durata > a 30sec).

Le extrasistoli con morfologia a blocco di branca sinistra venivano riferite con origine dal ventricolo destro e quelle con morfologia a blocco di branca destro dal ventricolo di sinistra.

Elettrocardiogramma di superficie (ECG): è stato eseguito un elettrocardiogramma standard a 12 derivazioni (25mm/sec, 10mm/mV) L'ECG normale è stato definito come un ECG che presentava ritmo sinusale, con asse del QRS compreso tra -30° e $+90^{\circ}$, onde P di durata inferiore ai 120msec, intervallo PR compreso tra 120 e 200 msec, QRS non superiore ai 100 msec nelle precordiali destre, assenza di onde q patologiche e di onda ϵ , onda T normale o negativa solo in V1, assenza di disturbi di conduzione destra o sinistra o ritardo intraventricolare aspecifico, assenza di sopraslivellamento del tratto ST significativo.

Il voltaggio del QRS è stato calcolato sommando l'altezza dei vari componenti del QRS nelle derivazioni precordiali.

Elettrocardiogramma ad alta risoluzione (SAECG) è stato ottenuto utilizzando il sistema MAC 15 (Marquette Inc., Milwaukee, IL, USA). La cute è stata pulita con etanolo ed abrasa. Gli elettrodi della derivazione X sono stati collocati sulla linea medio-ascellare a livello della derivazione elettrocardiografica V5, a destra(-) e a sinistra(+). Gli elettrodi della derivazione

Y sono collocati nella parte superiore del manubrio sternale(-) e nella parte inferiore dello sterno(+). Gli elettrodi della derivazione Z sono collocati al quinto spazio intercostale lungo il bordo sinistro dello sterno(+) e in uguale posizione sulla faccia posteriore del torace (-). I segnali registrati sono analizzati nel dominio del tempo. L'analisi nel dominio del tempo ricava i suoi dati dall'amplificazione del vettore del QRS, ottenuto mediante la radice quadrata media dei segnali ottenuti dalle derivazioni ortogonali standard X, Y, Z, sottoposti ad un filtraggio digitale. Il QRS filtrato è costituito dal vector magnitudo delle derivazioni X, Y, Z. L'analisi nel dominio del tempo è stata ottenuta in ogni paziente usando tre differenti filtri, a 25-250, 40-250, 80-250 Hertz. Per ogni filtro analizzato, sono stati considerati i seguenti tre parametri: 1) durata del QRS filtrato (QRSD), 2) la durata del segnale d'alta frequenza e bassa ampiezza nella parte terminale del QRS (HFLA-high-frequency low amplitude), che vuol dire il tempo in cui il complesso QRS filtrato è inferiore ad un dato valore (40 microvolt), 3) radice quadrata media del voltaggio negli ultimi 40msec del QRS filtrato (RMS-root mean square). Per il filtro a 80 Hertz, RMS era automaticamente calcolata dagli ultimi 20msec del QRS filtrato. Il numero medio di battiti analizzati variava da 250 a 400, in modo di ottenere un livello di noise $< 0,7 \mu\text{V}$. I valori normali per il nostro laboratorio sono stati stabiliti analizzando le registrazioni di 146 soggetti sani, uniformati per sesso ed età, che avevano un ECG normale ed un QRSD $< 90 \text{ ms}$. La normalità dei vari parametri era stabilita (intervallo di confidenza del 95%): per il filtro 25 Hertz: QRSD $< 120\text{ms}$, HFLA $< 40\text{ms}$, RMS $> 25 \mu\text{V}$; per il filtro 40 Hertz QRSD $< 118\text{ms}$, HFLA $< 40\text{ms}$, RMS $> 20 \mu\text{V}$; per il filtro 80 Hertz QRSD $< 106\text{ms}$, HFLA $< 34\text{ms}$, RMS $> 12 \mu\text{V}$. In particolare il SAECG si considerava positivo, quando almeno due parametri erano anormali ad un filtro analizzato. La rappresentazione grafica dei potenziali tardivi e i valori numerici dei parametri sono stati visti manualmente. Pazienti con blocco di branca destro completo

sono stati esclusi dallo studio.

Ecocardiogramma: l'ecocardiogramma è stato eseguito da due operatori esperti, usando un Hewlett Packard Sonos 5500 con sonda S4 e includeva l'analisi B-mode, M-mode e Doppler. Le immagini del cuore sono state ottenute in parasternale asse lungo ed asse corto, apicale quattro camere e proiezione sottocostale. I volumi ventricolari sinistri (VTDsx) sono stati calcolati usando un modello area-lunghezza (ellissoide biplano) derivato da immagini del ventricolo sinistro nella proiezione apicale quattro camere. La frazione di eiezione sinistra (FEsx) è stata calcolata usando la formula: volume telediastolico meno volume telesistolico diviso volume telediastolico. Il diametro telediastolico sinistro (DTDsx) è stato calcolato dalla proiezione parasternale sinistra in asse lungo usando l'M-mode. I volumi telediastolico e telesistolico del ventricolo destro (VTDdx, VTSdx) sono stati calcolati usando un metodo area-lunghezza derivato da piani ortogonali della proiezioni apicale quattro camere e asse corto sottocostale. Inoltre, le dimensioni del ventricolo destro sono state ottenute secondo il protocollo di Foale et al, con la valutazione delle dimensioni del tratto di efflusso del VD (RVOT) e del tratto di afflusso del VD (RVIT) (figura 1). Dal tratto di afflusso è stato misurato $RVOT_1$ (calcolato dalla parete anteriore del ventricolo destro al setto ventricolare destro in diastole in proiezione parasternale asse lungo), $RVOT_4$ (massima distanza tra la parete aortica anteriore e la parete libera del VD in diastole, in proiezione parasternale asse corto). Dal tratto di afflusso è stato misurato $RVIT_3$ (entro un terzo della distanza sotto l'anello valvolare tricuspide, nella proiezione apicale quattro camere,). Inoltre nella proiezione apicale quattro camere sono stati considerati anche l'asse lungo (LAX: dall'apice del VD al punto medio dell'anello tricuspide, nella proiezione apicale quattro camere) e l'asse corto del ventricolo destro (SAX: terzo medio del VD), assieme all'area telediastolica (ATDdx) e all'area sistolica del VD (ATSdx) e alla frazione di accorciamento

(FA). Le anomalie strutturali (disarrangiamento della trabecolatura e ispessimento e/o iperreflettività della banda moderatrice) sono state attentamente analizzate. La banda moderatrice è stata definita come “ispessita” quando era ≥ 5 mm, e come “iperreflettiva” se c’era una persistenza di ecogenicità nel momento in cui la parete del ventricolo destro spariva dopo che il gain ecocardiografico era stato ridotto almeno del 50% del livello basale. Inoltre sono state cercate attentamente alterazioni come bulging e sacculazioni e alterazioni della cinetica segmentarla in tutte le proiezione.

Analisi statistica

Le variabili continue sono espresse come medie \pm deviazione standard, le variabili categoriche come percentuali. Il confronto tra variabili continue è stato effettuato mediante il test t per variabili appaiate con numerosità dissimile, mentre il confronto tra variabili categoriche è stato effettuato mediante Chi-quadrato o Fisher exact-test.

Un valore di probabilità $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

L’analisi multivaraita è stata eseguita mediante una analisi di regressione logistica binaria per step successivi al fine di valutare i parametri predittivi di gravità di malattia in termini di dilatazione ventricolare destra. I parametri considerati sono stati i seguenti: età, sesso, tipo di gene mutato, presenza di aritmie ventricolari, presenza di sincope, TV sostenuta, FV/morte improvvisa, scompenso cardiaco.

La libertà da eventi calcolata sia considerando come periodo di osservazione iniziale la nascita che il momento della diagnosi è stata calcolata con il metodo di Kaplan-Meier e la comparazione tramite il log-rank test. Il valore di p è stato considerato significativo se <0.05 . L’analisi statistica è stata eseguita con il programma SPSS 17 (SPSS inc, Chicago, Illinois).

RISULTATI

Popolazione di studio: sono stati studiati 257 soggetti (M/F 129/128 di età media 35 ± 18 anni con range 6- 70 anni) appartenenti a 38 famiglie, tutti sottoposti ad indagine genetica per i geni codificanti le proteine desmosomiali. I probandi erano 38 e i familiari esaminati 219. I familiari che risultavano positivi all'indagine genetica erano 132, pari al 51% del totale esaminato. I pazienti positivi per mutazione a livello dei geni codificanti per le 5 proteine desmosomiali (plakofillina, plakoglobina, desmocollina e desmogleina) venivano suddivisi in 4 gruppi in base alla alterazione genetica individuata. I pazienti affetti da malattia erano 80 (età media $44\pm$ M/F 56/27 rapporto 2:1). I portatori sani erano 90 . (tabelle 1, 2)

PRIMO GRUPPO, PRIMA VISITA

DATI CLINICI il gruppo risultava composto da 46 soggetti con mutazione sul gene codificante la plakofillina2, si contavano 27 maschi e 19 femmine con età alla prima visita di 41 ± 20 anni. I pazienti affetti da malattia erano 21 (18 maschi e 3 femmine di età media 42 ± 18 anni), i portatori sani erano 25 (9 maschi e 16 femmine), i pazienti che per la diagnosi di ARVC soddisfacevano i criteri diagnostici erano 21 i pazienti che non presentavano alcun criterio erano 25. In questo gruppo l'età alla diagnosi di malattia era di 32 ± 19 anni, aritmie significative all'ECG Holter delle 24 ore erano presenti nel 50% dei soggetti. (Tabella 1)

ELETTROCARDIOGRAMMA: Il 28% dei pazienti presentava alterazioni all'elettrocardiogramma di base a 12 derivazioni, 3 pazienti presentavano bassi voltaggi precordiali, 10 disturbi di conduzione interventricolare destra (9 pazienti ritardo destro e 1 blocco di branca destro completo) In 11 pazienti la durata del complesso QRS risultava $>$ di 110msec. Alterazioni della ripolarizzazione con onde T negative da V1 a V3 in 4 pazienti, da V3 a V6 in 1

paziente, in 5 pazienti si apprezzavano onde T negative oltre V3. (vedi Tabella n°6)

SAECG (POTENZIALI TARDIVI AD ALTA RISOLUZIONE) risultavano alterati nel 50% della popolazione studiata (vedi tabella n 8°)

ECOCARDIOGRAMMA: nel 52% dei pazienti vi era una dilatazione del ventricolo destro (ATD 21 ± 5 cm² VTD 74 ± 28 ml/m²), nel 19% la funzione ventricolare destra era depressa e le alterazioni cinetiche segmentarie si localizzavano all'apice nel 24% dei casi, nella regione sottotricuspidale nel 22% e alla parete libera nel 13%). Morfologicamente appariva un aumento della trabecola tura nel 19%, un disarrangiamento trabecolare nell'11% e una iperriflettenza della banda moderatrice nell'11%. L'ingrandimento dell'RVOT4 era presente nel 15% dei casi con valore medio di 3 ± 1 cm, mentre il rapporto RVOT4/radice aortica era di $1,1\pm 0,1$. Il ventricolo sinistro risultava dilatato nel 22% dei casi con depressione della funzione sistolica nel 6,5%. Un coinvolgimento bi ventricolare si aveva nel 17% dei casi. (vedi tabella n°10, 11)

SECONDO GRUPPO, PRIMA VISITA

DATI CLINICI il gruppo risultava composto da 59 soggetti con mutazione sul gene codificante la desmoplakina, si contavano 31 maschi e 28 femmine con età alla prima visita di 49 ± 20 anni e range da a . I pazienti affetti da malattia erano 24 (15 maschi e 9 femmine di età media 37 ± 19 anni), i portatori sani erano 25 (5 maschi e 20 femmine), i pazienti che per la diagnosi di ARVC soddisfacevano i criteri diagnostici erano 24, i pazienti che non presentavano alcun criterio erano 35. In questo gruppo l'età alla diagnosi di malattia era di 34 ± 19 anni, aritmie significative all'ECG Holter delle 24 ore erano presenti nel 6,5% dei soggetti. (vedi tabella n°1)

ELETTROCARDIOGRAMMA: Il 22% dei pazienti presentava alterazioni all'elettrocardiogramma di base a 12 derivazioni, 2 pazienti presentavano bassi

voltaggi precordiali, 4 disturbi di conduzione interventricolare destra (2 pazienti ritardo destro e 2 blocco di branca destro completo) In 10 pazienti la durata del complesso QRS risultava $>$ di 110msec. Alterazioni della ripolarizzazione con onde T negative da V1 a V3 in 5 pazienti, da V3 a V6 in 3 pazienti, in 1 paziente si apprezzavano onde T negative oltre V3. (vedi tabella n°6)

SAECG (POTENZIALI TARDIVI AD ALTA RISOLUZIONE) risultavano alterati nel 20% della popolazione studiata (vedi tabella n°8)

ECOCARDIOGRAMMA: nel 25% dei pazienti vi era una dilatazione del ventricolo destro. Le dimensioni medie del ventricolo destro erano ATD 20 ± 9 cm² VTD 66 ± 23 ml/m²), nel 12% la funzione ventricolare destra era depressa e le alterazioni cinetiche segmentarie si localizzavano all'apice nel 15% dei casi, nella regione sottotricuspidale nel 24% e alla parete libera nel 15%). Morfologicamente appariva un aumento della trabecolatura nel 15%, un disarrangiamento trabecolare nell'3% e una iperriflettenza della banda moderatrice nell'8%. L'ingrandimento dell'RVOT4 era presente nel 12% dei casi con valore medio di $3\pm 0,6$ cm, mentre il rapporto RVOT4/radice aortica era di $1,1\pm 0,2$. Il ventricolo sinistro risultava dilatato nel 10% dei casi con depressione della funzione sistolica nell' 8%. Un coinvolgimento bi ventricolare si aveva nel 15% dei casi. (vedi tabella n°10, 11)

TERZO GRUPPO, PRIMA VISITA

DATI CLINICI il gruppo risultava composto da 37 soggetti con mutazione sul gene codificante la desmogleina 2, si contavano 14 maschi e 23 femmine con età alla prima visita di 34 ± 19 anni e range da a . I pazienti affetti da malattia erano 16 (8 maschi e 8 femmine di età media 37 ± 19 anni), i portatori sani erano 21 (5 maschi e 16 femmine), i pazienti che per la diagnosi di ARVC soddisfacevano i criteri diagnostici erano 14, i pazienti che non presentavano alcun criterio erano 23. In questo gruppo l'età alla diagnosi di malattia era di 27 ± 21 anni, aritmie

significative all'ECG Holter delle 24 ore erano presenti nel 24% dei soggetti. (vedi tabella n°1)

ELETTROCARDIOGRAMMA: Il 19% dei pazienti presentava alterazioni all'elettrocardiogramma di base a 12 derivazioni, 3 pazienti presentavano bassi voltaggi precordiali, 3 disturbi di conduzione interventricolare destra (2 pazienti ritardo destro e 1 blocco di branca destro completo) In 2 pazienti la durata del complesso QRS risultava > di 110msec. Alterazioni della ripolarizzazione con onde T negative da V1 a V3 in 5 pazienti, in 1 paziente si apprezzavano onde T negative oltre V3. (vedi tabella n°6)

SAECG (POTENZIALI TARDIVI AD ALTA RISOLUZIONE) risultavano alterati nel 24% della popolazione studiata (vedi tabella n°8)

ECOCARDIOGRAMMA: nel 30% dei pazienti vi era una dilatazione del ventricolo destro. Le dimensioni medie del ventricolo destro erano: ATD $18\pm 3,8$ cm² VTD 59 ± 34 ml/m², nell' 11% la funzione ventricolare destra era depressa e le alterazioni cinetiche segmentarie si localizzavano all'apice nel 19% dei casi, nella regione sottotricuspidale nel 13% e alla parete libera nel 8%). Morfologicamente appariva un aumento della trabecolatura nel 30%, un disarrangiamento trabecolare nell'5% e una iperriflettenza della banda moderatrice nel 19%. L'ingrandimento dell'RVOT4 era presente nel 13% dei casi con valore medio di $3\pm 0,7$ cm, mentre il rapporto RVOT4/radice aortica era di $1,1\pm 0,1$. Il ventricolo sinistro risultava dilatato nell'8% e in tutti i casi la funzione sistolica era normale. Un coinvolgimento bi ventricolare si aveva nell'11% dei casi (vedi tabella n°10, 11)

QUARTO GRUPPO, PRIMA VISITA

DATI CLINICI il gruppo risultava composto da 28 soggetti con multiple mutazioni (≥ 2 mutazioni su geni diversi), si contavano 15 maschi e 13 femmine con età alla prima visita di 59 ± 16 anni e range da a . I pazienti affetti da malattia erano

19 (12 maschi e 7 femmine di età media 42 ± 13 anni), i portatori sani erano 9 (4 maschi e 5 femmine), i pazienti che per la diagnosi di ARVC soddisfacevano i criteri diagnostici erano 17, i pazienti che non presentavano alcun criterio erano 11. In questo gruppo l'età alla diagnosi di malattia era di 36 ± 16 anni, aritmie significative all'ECG Holter delle 24 ore erano presenti nel 53% dei soggetti. (vedi tabella n°1)

ELETTROCARDIOGRAMMA: Il 64% dei pazienti presentava alterazioni all'elettrocardiogramma di base a 12 derivazioni, 10 pazienti presentavano bassi voltaggi precordiali, 6 disturbi di conduzione interventricolare destra (5 pazienti ritardo destro e 1 blocco di branca destro completo) In 7 pazienti la durata del complesso QRS risultava $>$ di 110msec. Alterazioni della ripolarizzazione con onde T negative da V1 a V3 in 6 pazienti, in 1 paziente si apprezzavano onde T negative da V3 a V6 e in 6 onde T negative oltre V3 (vedi tabella n°6)

SAECG (POTENZIALI TARDIVI AD ALTA RISOLUZIONE) risultavano alterati nel 39% della popolazione studiata (vedi tabella n°8°)

ECOCARDIOGRAMMA: nel 64% dei pazienti vi era una dilatazione del ventricolo destro. Le dimensioni medie del ventricolo destro erano: ATD $26\pm 9,1$ cm² VTD 85 ± 26 ml/m², nel 10% la funzione ventricolare destra era depressa e le alterazioni cinetiche segmentarie si localizzavano all'apice nel 39% dei casi, nella regione sottotricuspidale nel 54% e alla parete libera nel 12%). Morfologicamente appariva un aumento della trabecolatura nel 43%, un disarrangiamento trabecolare nel 43% e una iperriflettenza della banda moderatrice nel 18%. L'ingrandimento dell'RVOT4 era presente nel 36% dei casi con valore medio di $3\pm 0,8$ cm, mentre il rapporto RVOT4/radice aortica era di $1,0\pm 0,1$. Il ventricolo sinistro risultava dilatato nel 25% e nell'11% la funzione sistolica era depressa. Un coinvolgimento biventricolare si aveva nel 28% dei casi (vedi tabelle n°10, 11)

PRIMO GRUPPO, ULTIMA VISITA DI FOLLOW- UP

DATI CLINICI il gruppo risultava composto da 31 soggetti con mutazione sul gene codificante la plakofillina2, si contavano 18 maschi e 13 femmine con età media al follow-up di 45 ± 18 anni. La durata media del follow- up era di 8 ± 4 . I pazienti affetti da malattia erano 21 (17 maschi e 4 femmine di età media 38 ± 17 anni), i portatori sani erano 10 (4 maschi e 6 femmine) (vedi tabella n° 13°)

ELETTROCARDIOGRAMMA: Il 42% dei pazienti presentava alterazioni all'elettrocardiogramma di base a 12 derivazioni, 7 pazienti presentavano bassi voltaggi precordiali, 8 disturbi di conduzione interventricolare destra (6 pazienti ritardo destro e 2 blocco di branca destro completo). In 9 pazienti la durata del complesso QRS risultava $>$ di 110msec. Alterazioni della ripolarizzazione con onde T negative da V1 a V3 in 5 pazienti, da V3 a V6 in 1 paziente, in 5 pazienti si apprezzavano onde T negative oltre V3. (vedi tabella n°15)

SAECG (POTENZIALI TARDIVI AD ALTA RISOLUZIONE) risultavano alterati in 11 soggetti della popolazione studiata, pari al 35% (vedi tabella n°17)

ECOCARDIOGRAMMA: nel 65% dei pazienti vi era una dilatazione del ventricolo destro (ATD 26 ± 8 cm² VTD 87 ± 14 ml/m²), nel 32% la funzione ventricolare destra era depressa e le alterazioni cinetiche segmentarie si localizzavano all'apice nel 35% dei casi, nella regione sottotricuspidale nel 52% e alla parete libera nel 35%). Morfologicamente appariva un aumento della trabecola tura nel 42%, un disarrangiamento trabecolare nel 29% e una iperriflettenza della banda moderatrice nel 19%. L'ingrandimento dell'RVOT4 era presente nel 15% dei casi con valore medio di $3,6\pm 0,7$ cm, mentre il rapporto RVOT4/radice aortica era di $1,1\pm 0,1$. Il ventricolo sinistro risultava dilatato nel 29% dei casi con depressione della funzione sistolica nel 9,6%. Un coinvolgimento bi ventricolare si aveva nel 17% dei casi. (vedi tabella n°19, 20)

SECONDO GRUPPO, ULTIMA VISITA

DATI CLINICI il gruppo risultava composto da 40 soggetti con mutazione sul gene codificante la desmoplakina, si contavano 21 maschi e 19 femmine con età alla prima visita di 36 ± 19 anni e range da a . I pazienti affetti da malattia erano 20 (15 maschi e 5 femmine di età media 37 ± 19 anni), i portatori sani erano 20 (5 maschi e 20 femmine (vedi tabella n°13, 14)

ELETTROCARDIOGRAMMA: Il 47% dei pazienti presentava alterazioni all'elettrocardiogramma di base a 12 derivazioni, 4 pazienti presentavano bassi voltaggi precordiali, 4 disturbi di conduzione interventricolare destra 4 pazienti con blocco di branca destro completo. In 2 pazienti la durata del complesso QRS risultava $>$ di 110msec. Alterazioni della ripolarizzazione con onde T negative da V1 a V3 in 6 pazienti, da V3 a V6 in 1 paziente, in 2 paziente si apprezzavano onde T negative oltre V3. In 6 pazienti si evidenziava l'onda epsilon. (vedi tabella n°15)

SAECG (POTENZIALI TARDIVI AD ALTA RISOLUZIONE) risultavano alterati nel 45% della popolazione studiata (vedi tabella n°17)

ECOCARDIOGRAMMA: nel 50% dei pazienti vi era una dilatazione del ventricolo destro. Le dimensioni medie del ventricolo destro erano ATD 25 ± 16 cm² VTD 67 ± 23 ml/m²), nel 17% la funzione ventricolare destra era depressa e le alterazioni cinetiche segmentarie si localizzavano all'apice nel 17% dei casi, nella regione sottotricuspidale nel 25% e alla parete libera nel 22%). Morfologicamente appariva un aumento della trabecolatura nel 27%, un disarrangiamento trabecolare nell'2,5% e una iperriflettenza della banda moderatrice nel 17%. L'ingrandimento dell'RVOT4 era presente nel 12% dei casi con valore medio di $3,4\pm 0,9$ cm, mentre il rapporto RVOT4/radice aortica era di $1,1\pm 0,2$. Il ventricolo sinistro risultava dilatato nel 25% dei casi con depressione della funzione sistolica nel 12%. Un coinvolgimento bi ventricolare si aveva nel 22% dei casi. (vedi tabella n°19, 20)

TERZO GRUPPO, ULTIMA VISITA DI FOLLOW-UP

DATI CLINICI il gruppo risultava composto da 20 soggetti con mutazione sul gene codificante la desmogleina 2, si contavano 10 maschi e 10 femmine con età alla prima visita di 40 ± 20 anni e range da a . I pazienti affetti da malattia erano 13 (8 maschi e 5 femmine di età media 37 ± 19 anni), i portatori sani erano 7 (4 maschi e 3 femmine. (vedi tabella n°13, 14)

ELETTROCARDIOGRAMMA: Il 35% dei pazienti presentava alterazioni all'elettrocardiogramma di base a 12 derivazioni, 4 pazienti presentavano bassi voltaggi precordiali, 5 disturbi di conduzione interventricolare destra (4 pazienti ritardo destro e 1 blocco di branca destro completo) In 5 pazienti la durata del complesso QRS risultava $>$ di 110msec. Alterazioni della ripolarizzazione con onde T negative da V1 a V3 in 2 pazienti, in 1 paziente si apprezzavano onde T negative oltre V3 e 1 paziente solo da V3- V6 (vedi tabella n°15)

SAECG (POTENZIALI TARDIVI AD ALTA RISOLUZIONE) risultavano alterati nel 50% della popolazione studiata (vedi tabella n°17)

ECOCARDIOGRAMMA: nel 55% dei pazienti vi era una dilatazione del ventricolo destro. Le dimensioni medie del ventricolo destro erano: ATD 24 ± 9 cm² VTD 72 ± 41 ml/m², nell' 30% la funzione ventricolare destra era depressa e le alterazioni cinetiche segmentarie si localizzavano all'apice nel 30% dei casi, nella regione sottotricuspidale nel 30% e alla parete libera nel 30%). Morfologicamente appariva un aumento della trabecolatura nel 30%, un disarrangiamento trabecolare nel 20% e una iperriflettenza della banda moderatrice nel 15%. L'ingrandimento dell'RVOT4 era presente nel 13% dei casi con valore medio di $3\pm 0,8$ cm, mentre il rapporto RVOT4/radice aortica era di $1,1\pm 0,1$. Il ventricolo sinistro risultava dilatato nel 15% e nel 15% c'era una depressione della funzione sistolica. Un coinvolgimento bi ventricolare si aveva nell'20% dei casi (vedi tabella n°19, 20)

QUARTO GRUPPO, ULTIMA VISITA DI FOLLOW- UP

DATI CLINICI il gruppo risultava composto da 22 soggetti con multiple mutazioni (≥ 2 mutazioni su geni diversi), si contavano 14 maschi e 8 femmine con età alla prima visita di 47 ± 10 anni e range da a . I pazienti affetti da malattia erano 19 (12 maschi e 7 femmine di età media 42 ± 13 anni), i portatori sani erano 3 (1 maschio e 2 femmine (vedi tabella n°13, 14)

ELETTROCARDIOGRAMMA: Il 68% dei pazienti presentava alterazioni all'elettrocardiogramma di base a 12 derivazioni, 6 pazienti presentavano bassi voltaggi precordiali, 5 disturbi di conduzione interventricolare destra (4 pazienti ritardo destro e 1 blocco di branca destro completo) In 7 pazienti la durata del complesso QRS risultava $>$ di 110msec. Alterazioni della ripolarizzazione con onde T negative da V1 a V3 in 2 pazienti e in 6 onde T negative oltre V3. (vedi tabella n°15)

SAECG (POTENZIALI TARDIVI AD ALTA RISOLUZIONE) risultavano alterati nell'82% della popolazione studiata (vedi tabella n°17)

ECOCARDIOGRAMMA: nel 68% dei pazienti vi era una dilatazione del ventricolo destro. Le dimensioni medie del ventricolo destro erano: ATD 27 ± 8 cm² VTD 87 ± 29 ml/m², nel 50% la funzione ventricolare destra era depressa e le alterazioni cinetiche segmentarie si localizzavano all'apice nel 41% dei casi, nella regione sottotricuspidale nel 54% e alla parete libera nel 45%). Morfologicamente appariva un aumento della trabecolatura nel 45%, un disarrangiamento trabecolare nel 32% e una iperriflettenza della banda moderatrice nel 32%. L'ingrandimento dell'RVOT4 era presente nel 36% dei casi con valore medio di $4 \pm 0,7$ cm, mentre il rapporto RVOT4/radice aortica era di $1,2 \pm 0,3$. Il ventricolo sinistro risultava dilatato nel 18% e nell'27% la funzione sistolica era depressa. Un coinvolgimento biventricolare si aveva nel 45% dei casi. (vedi tabella n°19, 20)

L'analisi statistica dei dati non ha evidenziato differenze statisticamente

significative tra i diversi gruppi per quanto riguarda l'età di insorgenza della malattia ma ha evidenziato che alla prima visita i pazienti con una multipla mutazione (MM) erano affetti in maniera significativamente maggiore rispetto a quelli con singola mutazione che invece presentavano una percentuale maggiore di portatori sani. (tabella 2)

Tra i sintomi riportati alla prima visita (tabella 4) dai pazienti si evidenziava una significatività statistica per quanto riguarda la sensazione di cardiopalmo che risultava maggiore nei pazienti con multipla mutazione rispetto agli altri gruppi e questo correla bene con il fatto che le manifestazioni aritmiche invece erano maggiori nel gruppo dei pazienti MM e plakofillina rispetto agli altri gruppi.

Le alterazioni elettrocardiografiche (tabellan°7) al tracciato di base a 12 derivazioni erano maggiori nel gruppo MM e minori negli altri gruppi con una percentuale che oscillava dal 19% al 28% . Le forme MM erano quelle in cui i voltaggi elettrocardiografici erano i più bassi e inoltre in queste forma l'elettrocardiogramma mostrava una maggiore compromissione con la presenza di onde T negative oltre V3 e onde T nelle sedi inferiori (DII, DIII e aVF). I potenziali tardivi invece erano presenti in tutti i gruppi senza significative differenze.(tabella n° 9). Un altro dato significativo riguarda la maggiore durata dell'intervallo QTc ($p < 0,03$) nei pazienti MM rispetto agli altri gruppi.

L'analisi ecocardiografica (tabella n° 12) evidenziava che i pazienti con mutazione MM avevano forme più estese di malattia con volumi ventricolari destri significativamente più grandi (ATD medio 26 ± 9 cm²) e funzione ventricolare destra significativamente più depressa (FE 51 ± 9 %). Inoltre nelle forme MM erano presenti in maniera significativa rispetto agli altri gruppi, alterazioni cinetiche localizzate al cosiddetto "triangolo della displasia" ovvero alla regione sottotricuspidale, all'apice e alla parete libera. Per quanto riguarda il coinvolgimento ventricolare sinistro questo era significativamente maggiore

nelle forma di MM e nelle forme PKP2 correlate.

Paragonando poi i dati della prima visita con quelli dell'ultima visita di follow-up (tabelle n°22,23) si evidenziava in maniera statisticamente significativa che nelle forme DSP correlate c'era una maggiore progressione della malattia con una maggiore dilatazione bi ventricolare, soprattutto a carico del ventricolo di sinistra. Le forme PKP2 invece evidenziavano un maggior compromissione ed aggravamento del grado di disfunzione ventricolare destra. In tutti i gruppi la progressione di malattia si evidenziava anche con una maggiore presenza di potenziali tardivi rispetto alla prima visita. Per quanto riguarda le alterazioni elettrocardiografiche tra prima e ultima visita c'erano differenze statisticamente significative solo nel gruppo DSP con la maggior presenza di onda epsilon e la scarsa crescita dell'onda r.

La percentuale di probandi portatori delle varie mutazioni era simile nei gruppi DSP e PKP2 (pari a 17% e 28% rispettivamente, $p=0.17$) mentre risultava maggiore nel gruppo MM (53% DSP vs MM $p=0.0001$; PKP2 vs MM $p=0,08$). (tabella Tabelle n° 26, 28)

Durante il follow-up 18 pazienti hanno avuto eventi maggiori (età media 42 ± 18 anni) e questi erano: 8 pazienti con tachicardia ventricolare sostenuta, 5 pazienti con scompenso cardiaco (età allo scompenso 57 ± 15). Dei pazienti scompensati 3 sono trapiantati (M/F 2/1), un paziente di sesso maschile di 35anni è deceduto invece le due pazienti di sesso femminile di 44 e 67 anni godono di buona salute. Due pazienti, maschi di 15 e 28 anni sono morti improvvisamente durante il nostro follow-up.

Risonanza magnetica cardiaca: in pazienti selezionati, con genetica positiva, è stata effettuato uno studio di risonanza magnetica cardiaca al fine di fare diagnosi di malattia nei casi dubbi oppure di valutarne l'estensione nei casi già diagnosticati. (tabella n°24). Si trattava di un gruppo di 16 pazienti (M/F 9/7 di età media 28 ± 16), in 4 di questi la diagnosi era già stata fatta alla visita con

gli esami clinico-strumentali abituali. La risonanza ha permesso di fare diagnosi di malattia in altri 8 pazienti, che non avevano nessun tipo di alterazione agli esami clinico strumentali eseguiti di routine nel nostro ambulatorio. In questi pazienti era presente un late-enhancement (LE) isolato del ventricolo sinistro in 3 (38%), un LE isolato del ventricolo destro in 1 (12.5%) ed un LE biventricolare in 2 (25%). Inoltre in 2 pazienti affetti da multipla mutazione la risonanza ha permesso di fare diagnosi di forma bi-ventricolare per la presenza di late enhancement anche nella parete ventricolare sinistra. In 3 pazienti la risonanza è risultata non diagnostica pertanto questi pazienti saranno seguiti con un monitoraggio di risonanza magnetica a scadenza periodica (intervallo di circa 18 mesi). I 16 pazienti sono stati suddivisi nei 4 gruppi a seconda della mutazione presentata, l'analisi statistica non ha evidenziato differenze significative tra i vari gruppi per quanto riguarda i parametri analizzati (tabella n°25)

La libertà da eventi nei pazienti con le diverse mutazioni considerando il periodo iniziale di osservazione la nascita e valutando come eventi maggiori la sincope, il dolore toracico, le aritmie ventricolari maligne, la morte improvvisa e o scompenso cardiaco) non hanno evidenziato differenze significative tra i vari gruppi (grafici 1,2,3,4). Considerando invece il follow-up, ovvero il periodo di osservazione del paziente a partire dal momento della diagnosi, l'unica differenza significativa riguardava la comparazione tra i gruppi DSG2 e MM. (grafico 5)

All'analisi multivariata i parametri che predicevano l'estensione della malattia identificata dalla dilatazione del ventricolo destro risultavano essere il sesso maschile (OR 9.159, 95% CI 2.62– 32.0, $p = 0.001$); tra gli eventi al follow-up l'unico in grado di predire la dilatazione ventricolare destra risultava essere la presenza di aritmie ventricolari (OR 97.14, 95% CI 21.57– 437.50, $p < 0.001$).

DISCUSSIONE

Le recenti identificazioni genetiche ⁽²⁰⁾ nella cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro offrono l'opportunità di eseguire studi di correlazione genotipo- fenotipo ⁽⁷⁾ in un numero sempre maggiore di individui al fine di valutarne la storia naturale attraverso l'analisi dell'età di insorgenza, il grado di espressione, la progressione e la prognosi. Sono stati identificati 3 gruppi di geni causativi: i 5 geni desmosomiali (plakoglobina, desmoplakina-2, plakofillina-2, desmogleina-2, desmocollina-2), il TGFβ3 ed il recettore rianodinico RyR2. Si può quindi affermare che l' ARVC è caratterizzata da una eterogeneità clinica ma anche una eterogeneità genetica, anche se il processo fisiopatologico comune della malattia è la necrosi miocitaria seguita dalla sostituzione fibroadiposa del miocardio, con creazione di circuiti di rientro che sono alla base dell'instabilità elettrica tipica della malattia.

Il nostro studio ha preso in considerazione le conseguenze cliniche delle mutazioni sui geni codificanti le proteine desmosomiali che si localizzano a livello delle giunzioni intercellulari cardiache. Abbiamo analizzato un'ampia casistica, 257 soggetti appartenenti a 38 famiglie, esaminando in dettaglio le caratteristiche clinico-strumentali e gli eventi durante un lungo follow-up (media $7,5 \pm 3$ anni range 11- 78 anni). Il 51% dei soggetti (51% maschi, 49% femmine) è risultato essere portatore di una mutazione genetica, in accordo con il fatto che anche nella nostra casistica, la cardiomiopatia aritmogena ha una trasmissione autosomica dominante ⁽³⁾. L'applicazione dei criteri della Task Force del 1994 ⁽¹⁸⁾ ha permesso infatti di fare diagnosi di ARVC nel 46% dei pazienti con un minimo del 38% nei pazienti con mutazione a livello della desmogleina ed un massimo di 61% nei pazienti con mutazione multipla. Questi risultati sono sovrapponibili e quelli riportati dagli studi di correlazione genotipo- fenotipo di Bauce et coll ⁽⁵⁵⁾ su 4 famiglie con mutazione di DSP

(totale 26 soggetti) in cui il 54 % soddisfaceva i criteri diagnostici, di Syrris et coll (85) in nove famiglie portatrici della mutazione PKP2 (per un totale di 100 soggetti con mutazione) in cui il 53% dei pazienti con mutazione soddisfacevano i criteri della Task Force e da uno studio analogo di Van Tintelen et coll (84) che trovava una percentuale del 43%. Questo potrebbe indicare che i criteri di diagnosi attualmente in uso sono troppo restrittivi ed andrebbero rivisti sia alla luce delle recenti scoperte genetiche, per cui la presenza di mutazione genica dovrebbe far parte dei criteri di malattia, sia delle acquisizioni strumentali, ad esempio dall'uso della risonanza magnetica con somministrazione di gadolinio. E' interessante notare che, nel nostro studio, 12 pazienti portatori di mutazione genetica che non soddisfacevano i criteri di diagnosi siano stati sottoposti a risonanza magnetica cardiaca, che ha permesso di fare diagnosi ex-novo di malattia in 8 (50%). In questi pazienti era presente un late-enhancement (LE) isolato del ventricolo sinistro in 3 (38%), un LE isolato del ventricolo destro in 1 (12.5%) ed un LE biventricolare in 2 (25%) a dimostrazione dell'importanza del valore del dato di LE nella diagnosi di malattia. A tutt'oggi si ritiene che il late enhancement sia il marker della sostituzione fibrosa che è presente nella malattia (80), mentre le alterazioni dello spessore ventricolare, della cinetica parietale e l'aumento del segnale riferibile al grasso rimangono valutazioni spesso operatore-dipendente che non possono assicurare una sicura diagnosi di malattia.

Un altro aspetto importante della malattia emerso negli ultimi anni riguarda il frequente coinvolgimento del ventricolo sinistro nella ARVC. Nava et coll nel 2000(12) hanno descritto in una ampia serie di pazienti affetti in cui il coinvolgimento del ventricolo sinistro era del 16%. Norman e coll nel 2005 (86) descrivevano un maggior coinvolgimento del ventricolo di sinistra nei pazienti con mutazione del gene della desmoplakina, confermato dallo studio di Bauce et coll(55) su quattro famiglie con mutazioni dello stesso gene ed in cui un

coinvolgimento del ventricolo sinistro era presente nel 27% dei casi. Inoltre studi recenti con l'ausilio dell RMC con il mezzo di contrasto gadolinio hanno confermato come questo esame abbia un valore aggiunto nella diagnosi di coinvolgimento ventricolare sinistro. Alla luce di questi dati il coinvolgimento del ventricolo sinistro è un indicatore importante della presenza della malattia mentre i criteri attuali della Task Force escludono addirittura quei pazienti che abbiano una disfunzione ventricolare sinistra: si rende pertanto necessaria una revisione di tali criteri.

Uno degli scopi del nostro studio era la valutazione della storia naturale della malattia. Nella nostra casistica la malattia veniva diagnosticata per la prima volta ad una età media di 32 ± 12 anni, dato compatibile con quanto riportato in letteratura (7, 12, 46). Inoltre il follow-up clinico dei soggetti che non affetti alla prima visita e che venivano seguiti nel tempo con controlli periodici mostra come nel 24 % dei soggetti con mutazione la malattia si sia sviluppata durante il follow-up, con età media alla diagnosi di 16 ± 5 anni (range 10- 29 anni). Questo dato conferma da un lato che la vera età di insorgenza della malattia si colloca durante l'adolescenza , che la malattia è progressiva ed infine che il follow- up dei familiari è un efficace strumento di diagnosi e di prevenzione dato confermato anche basso numero di eventi fatali avvenuti durante il follow-up (2/170 pazienti seguiti, pari al 1.2%). Inoltre è interessante notare che il 65% dei probandi ed l'82% dei familiari erano asintomatici al momento della diagnosi, confermando ancora una volta come la diagnosi presintomatica, in particolare nei familiari dei soggetti affetti, sia un'importante strumento di prevenzione. Inoltre i pazienti sintomatici e quelli asintomatici non mostravano alcuna differenza significativa dei parametri strumentali esaminati, il nostro dato è concorde con quello di Chowdry et coll (57); da ciò possiamo quindi desumere che sintomi presentati dai pazienti non abbiano un ruolo importante sia nel processo diagnostico nè nel predire il grado di severità della malattia. Inoltre

nella nostra casistica le donne erano più sintomatiche rispetto agli uomini, anche se in realtà l'incidenza di aritmie risultava sovrapponibile nei due sessi, ad indicare forse come le donne abbiano una maggiore tendenza a percepire come "anomale" determinate sensazioni corporee. Tuttavia sarebbe sbagliato a questo punto sottovalutare l'importanza dei sintomi riferiti dai pazienti, considerando il fatto che il cardiopalmo era significativamente più presente nelle forme MM e PKP2 correlate dove in realtà risultavano essere presenti in percentuale statisticamente maggiore i fenomeni aritmici, associati ad un grado più importante di dilatazione ventricolare destra. Questo dato è confermato da altri studi su pazienti ARVC dove si evidenzia che il tipo e la severità delle aritmie si correla con l'estensione della malattia (12). E' importante comunque sottolineare che ad eccezione del cardiopalmo, nessun sintomo indagato (dispnea, dolore toracico, lipotimia, sincope) è risultato essere legato ad un particolare gene mutato.

La prevalenza maschile nei pazienti con ARVC è un dato noto (17). Anche nella nostra popolazione la percentuale di maschi che soddisfacevano i criteri di diagnosi era più alta rispetto a quella di femmine (con un rapporto M: F di 2,8:1); inoltre i maschi presentavano forme di malattia più estesa. Questo dato è in accordo con i dati riportati da Baucé et coll (8) su una casistica di 171 pazienti affetti. Il motivo della prevalenza maschile in questa malattia deve ancora essere chiarita e fa supporre che possano essere coinvolti fattori legati al sesso, ad esempio di natura endocrina, o fattori legati alle abitudini di vita, come la pratica sportiva agonistica (presente nel lavoro di Baucé et coll. nel 26% dei maschi vs 14% femmine, $p < 0.001$). (8)

Uno degli scopi dello studio era stabilire se ci fossero delle caratteristiche gene-specifiche nella presentazione clinica della malattia. L'analisi dei soggetti divisi per i quattro gruppi di geni considerati (PKP2, DSP, DSG2 e MM) non ha mostrato differenze significative tra i diversi gruppi riguardo l'età alla diagnosi.

Considerando invece la diagnosi clinica, i pazienti portatori di MM risultavano affetti in percentuale significativamente maggiore rispetto a quelli con mutazione singola.

Un altro dato importante che è emerso è che i soggetti con MM sono caratterizzati da fenotipo più grave con estensione della malattia più severa al momento della diagnosi, che si evidenzia ecocardiograficamente con volumi ventricolari destri maggiori e con un maggior grado di disfunzione del ventricolo destro. Inoltre il dato ecocardiografico di una maggiore gravità di malattia alla diagnosi nelle forme MM è anche testimoniato dal fatto che in questo gruppo le alterazioni elettrocardiografiche erano presenti in modo statisticamente significativo rispetto agli altri gruppi, ed in particolare erano presenti maggiormente bassi voltaggi, a testimonianza di una maggiore estensione di malattia e onde T negative oltre V3 e nelle sedi inferiori. In accordo con i dati di Chowdry et coll (7), non si sono evidenziate differenze significative nelle alterazioni dimensionali e funzionali del ventricolo destro e nelle alterazioni elettrocardiografiche nella cross-comparazione dei pazienti portatori di mutazioni singole a carico della desmogleina, desmoplakina e della plakofillina. L'analisi dei dati di follow-up mostra però come le forme con MM non presentino una progressione maggiore di malattia, inoltre al momento della diagnosi la maggior parte dei pazienti risulta già affetta da una forma estesa. È importante comunque sottolineare che nel gruppo di pazienti con mutazione MM la percentuale di probandi era significativamente maggiore rispetto agli altri gruppi, fatto che potrebbe spiegare, almeno in parte la maggiore gravità della malattia in questo gruppo di pazienti. Inoltre è da sottolineare che i pazienti con MM risultano avere un'età più elevata rispetto agli altri gruppi, anche se il dato non risulta statisticamente significativo.

Un altro dato significativo che è emerso nel nostro studio è legato alla maggiore durata dell'intervallo QTc all'elettrocardiogramma nei pazienti MM

rispetto a quelli con singola mutazione, questo dato potrebbe essere spiegato con il fatto che questi pazienti assumono in percentuale maggiore una terapia antiaritmica che allunga l'intervallo QT.

Inoltre nelle forme MM e PKP2 correlate si evidenziava anche un maggiore coinvolgimento del ventricolo di sinistra. In letteratura non è presente attualmente nessun studio clinico-strumentale su pazienti affetti da ARVC e portatori di mutazioni multiple, mentre la maggior prevalenza di forme gravi di malattia in soggetti portatori di più mutazioni rispetto a mutazioni singoli è stato già riportato nei soggetti affetti da cardiomiopatia ipertrofica. ⁽¹⁰⁰⁾. Il dato di una maggiore correlazione tra il coinvolgimento ventricolare sinistro e la mutazione PKP è in contrasto con il dato di Norman et coll ⁽⁸⁶⁾ che invece segnalava una correlazione di tale reperto strumentale con la presenza di mutazioni a carico della DSP. Al contrario i nostri dati di follow-up mostrano una progressione statisticamente significativa delle forme DSP correlate, soprattutto a carico del ventricolo di sinistra. In queste forme inoltre si nota un significativa riduzione della crescita dell'onda r nelle derivazioni precordiali. Si può quindi ipotizzare che, in accordo con i dati di Norman et coll ⁽⁸⁶⁾, la mutazione a carico della desmoplakina comporti sì un maggiore coinvolgimento del ventricolo di sinistra ma che non si evidenzerebbe subito al momento della diagnosi ma diventerebbe più significativo durante il follow-up. La spiegazione di una maggiore evoluzione in forma dominante sinistra a carico della desmoplakina non è ancora stata chiarita. Un' ipotesi è che nelle forme dominanti sinistre la mutazione del gene vada a distruggere l'integrità citoscheletrica agendo a livello del sito di legame della desmina all'interno della linea densa dei desmosomi, e che invece nelle forme dominanti destre la mutazione vada a localizzarsi all'esterno della linea densa dei desmosomi ^(89, 86, 37, 55)

Dai nostri dati sul follow-up sembrerebbe che le forme legate a mutazione della PKP2 evolvano con un maggior grado di compromissione ventricolare

destra sia in termini di dilatazione che in termini di disfunzione ventricolare. Tale dato è sovrapponibile con gli studi di Gerull et coll ⁽³⁷⁾ e di Syrris et coll ⁽³⁹⁾ che mostravano nei pazienti PKP2 positivi una maggiore compromissione del ventricolo di destra ed un grado maggiore di sostituzione fibroadiposa rispetto a quelle evidenziate nei pazienti affetti da ARVC senza mutazione della PKP2.

Una delle novità del nostro studio è la valutazione dell'incidenza di eventi maggiori (sincope, dolore toracico, scompenso cardiaco, arresto cardiaco tachicardia ventricolare, morte improvvisa) durante tutto il corso della vita nei diversi gruppi. L'esame delle curve di sopravvivenza non mostra in questo senso differenze significative tra i vari gruppi. E' interessante notare che Dalal et coll ⁽⁴⁶⁾ avevano comparato pazienti con mutazioni PKP2 e pazienti senza mutazione di PKP2, senza però eseguire la ricerca degli altri geni legati all'ARVC, riscontrando una differenza significativa nel numero di eventi e di aritmie durante il corso della vita. I dati in nostro possesso invece non mostrano una caratterizzazione gene-specifica della quantità di eventi maggiori, ed in definitiva del grado di pericolosità della malattia. Questo dato è confermato dall'analisi multivariata che mostra come l'estensione della malattia, indicata dalla dilatazione del ventricolo destro, sia correlata al sesso maschile ed alla presenza di aritmie ventricolari, ma non al tipo di gene mutato.

CONCLUSIONI

I dati ottenuti evidenziano delle caratteristiche gene- specifiche dell'ARVC in particolare al grado di dilatazione del ventricolo destro e del coinvolgimento ventricolare sinistro. Tuttavia la prognosi non sembra essere diversa nei portatori di mutazioni di geni diversi. Pertanto al momento attuale la caratterizzazione genetica non modifica l'approccio clinico- diagnostico e la stratificazione del rischio nei pazienti. La diversa espressione clinica della malattia in famiglie portatrici della stessa mutazione suggeriscono che il fenotipo è in larga misura influenzato anche da fattori ambientali.

Tabelle

Tabella 1: popolazione di studio alla prima visita

	PKP2	DSP	DSG2	MM
N° soggetti con mutazione	46	59	37	28
M/F (N°)	27/19	31/28	14/23	15/13
M/F (%)	59/41	53/47	38/62	54/46
Età alla prima visita	41±20	49±20	34±19	59±16
Età alla diagnosi	32±18	34±16	29±20	36±16
Pz affetti	21 (45%)	24(41%)	16(43%)	19(68%)
Healty carriers	25(54%)	35(59%)	21(57%)	9(32%)
Pz con alcuni criteri	21(45%)	19(41%)	14(38%)	17(61%)
Pz senza alcun criterio*	25(54%)	35(59%)	23(62%)	11(39%)

*con esclusione del criterio della familiarità

Tabella 2: analisi della popolazione di studio alla prima visita

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP VS MM	DSP vs MM	DSG vs MM
M/F	Ns	ns	ns	ns	ns	ns
Età alla prima visita	0,04	0,10	0,004	0,001	0,02	0,001
Età alla diagnosi	0,54	0,47	0,98	0,33	0,58	0,10
Pz affetti	0,05	0,85	0,84	0,05	0,02	0,04
Healty carriers	0,6	0,78	0,84	0,06	0,02	0,04
Pz con alcuni criteri	0,68	0,52	0,77	0,18	0,08	0,07
Pz senza alcun criterio*	0,60	0,45	0,77	0,21	0,08	0,07

Tabella 3: dati clinici alla prima visita

	PKP2		DSP		DSG2		MM	
N° pazienti	46		59		37		28	
Eta alla diagnosi	32±19		34±19		27±21		36±16	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Cardiopalmò	3	6,5	2	3,4	1	2,7	5	18
Sincope	1	2,2	1	1,7	2	5,4	3	11
Lipotimia	2	4,3	0	0	0	0	1	3,5
Arresto cardiaco	0	0	0	0	0	0	1	3,5
Precordialgie	0	0	3	5	3	8	2	7
Dispnea	1	2,2	0	0	0	0	0	0
TVS/FV	3	6,5	3	5	2	5,4	4	14
Heart failure	0	0	1	1,7	1	2,7	0	0
Aritmie al'Holter	13	50	9	6,5	9	24	15	53

Tabella 4: analisi dei dati clinici alla prima visita

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP VS MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Cardiopalmò	0,39	0,42	0,84	0,12	0,02	0,04
Sincope	1	0,41	0,31	0,05	0,05	0,5
Lipotimia	0,11	0,2	1	0,10	0,10	0,26
Arresto cardiaco	1	1	1	0,10	0,10	0,26
Precordialgie	0,12	0,05	0,55	0,7	0,7	0,88
Dispnea	0,25	0,37	1	1	1	1
TVS/FV	0,74	0,83	0,93	0,15	0,15	0,23
Heart failure	0,37	0,26	0,73	0,48	0,48	0,34
Aritmie al'Holter	0,0001	0,01	0,02	0,28	0,001	0,01

Tabella 5: dati ecocardiografici pazienti con aritmie

	PKP2	DSP	DSG	MM
N° pazienti	13	10	9	15
VTD	97±20	76±26	78±17	92±25
FE	49±10	56±12	55±7	50±9
Ingrandimento Vdx	12 (92%)	6 (60%)	7 (78%)	14 (93%)
Depressione FE	8 (61%)	4 (40%)	3 (33%)	8 (53%)

Tabella 6: dati elettrocardiografici alla prima visita

N° pazienti	PKP2		DSP		DSG2		MM	
	46		59		37		28	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Alterazioni ECG	13	28	13	22	7	19	18	64%
Bassi voltaggi	3	6,5	11	18	3	8	10	36%
Ritardo dx	9	19	2	3,4	2	5,4	5	17
Blocco di branca dx	1	2	2	3,4	1	2,7	1	3,6
Durata QRS >110	11	24	10	17	2	5,4	7	25
Onde T neg V1-V2	2	4,3	4	6,7	1	2,7	1	3,6
Onde T neg V1-V3	2	4,3	1	1,6	4	11	5	18
Onde T neg V3-V6	1	2,1	3	5	0	0	1	3,6
Onde T neg oltre V6	5	11	1	1,6	1	2,7	6	21
Onda epsilon	0	0	0	0	0	0	1	3,6
Onde T neg inf	3	6,5	1	1,6	0	0	6	21
Upstroke >25	0	0	4	6,7	1	2,7	4	14
Prolonged TAD	0	0	3	5	1	2,7	2	7,1
Ratio QRS >1,2	0	0	4	6,7	2	5,4	3	11
Par Block >25	0	0	1	1,6	2	5,4	2	7,1
r>s in V1-V2	3	6,5	0	0	2	5,4	3	11
Scarsa crescita r	1	2	2	3,4	2	5,4	2	7,1
QTc	427±30		413±68		374±121		475±58	

Tabella 7: analisi dei dati elettrocardiografici alla prima visita

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP VS MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Alterazioni ECG	0,48	0,34	0,72	0,003	0,002	0,0005
Bassi voltaggi	0,08	0,86	0,17	0,002	0,006	0,006
Ritardo dx	0,01	0,07	0,63	0,83	0,02	0,13
Blocco di branca dx	0,74	0,77	0,91	0,80	0,88	0,91
Durata QRS >110	0,37	0,02	0,09	0,92	0,38	0,82
Onde T neg V1-V2	0,59	0,69	0,39	0,88	0,56	0,02
Onde T neg V1-V3	0,44	0,22	0,05	0,05	0,06	0,83
Onde T neg V3-V6	0,42	0,38	0,17	0,88	0,83	0,42
Onde T neg oltre V3	0,04	0,15	0,71	0,004	0,002	0,02
Onda epsilon	1	1	1	0,19	0,12	0,2
Onde T neg inf	0,04	0,11	0,44	0,004	0,003	0,005
Upstroke >25	0,07	0,26	0,39	0,01	0,27	0,09
Prolonged TAD	0,13	0,49	0,58	0,01	0,69	0,09
Ratio QRS >1,2	0,07	0,33	0,79	0,07	0,49	0,44
Par Block >25	0,39	0,33	0,29	0,07	0,23	0,41
r>s in V1-V2	0,05	0,83	0,63	0,49	0,01	0,72
Scarsa crescita r	0,66	0,46	0,63	0,27	0,45	0,36
QTc	0,19	0,005	0,04	0,0001	0,0001	0,0001

Tabella n° 8: dati dei SAECG (potenziali tardivi ad alta risoluzione) alla prima visita

	PKP2	DSP	DSG2	MM
N° pazienti	46	59	37	28
Presenza di potenziali tardivi	13 (28%)	12(20%)	9(24%)	12(43%)
QRS25>120msec	125±18	119±18	117±23	129±15
HFLA25>40msec	24±13	26±13	31±23	33±16
RMS25<25µV	65±53	65±44	64±46	40±27
QRS40>118msec	117±19	110±17	109±23	122±19
HFLA40>40msec	38±15	34±15	40±15	47±21
RMS40<20µV	38±28	48±36	38±28	26±21
QRS80>106msec	105±22	99±18	99±22	111±20
HFLA80>34msec	37±16	32±18	37±14	44±20
RMS80<12µV	19±16	24±20	18±15	14±12

Tabella n° 9: analisi dei dati dei SAECG alla prima visita

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP VS MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Presenza di potenziali tardivi	0,001	0,01	0,64	0,36	0,06	0,19
QRS25>120msec	0,09	0,05	0,63	0,08	0,01	0,01
HFLA25>40msec	0,43	0,06	0,17	0,01	0,03	0,69
RMS25<25µV	1	0,92	0,91	0,02	0,007	0,01
QRS40>118msec	0,05	0,05	0,80	0,27	0,004	0,01
HFLA40>40msec	0,17	0,49	0,05	0,03	0,001	0,12
RMS40<20µV	0,12	1	0,16	0,05	0,004	0,06
QRS80>106msec	0,12	0,17	1	0,24	0,006	0,02
HFLA80>34msec	0,14	1	0,15	0,10	0,006	0,10
RMS80<12µV	0,16	0,74	0,12	0,15	0,01	0,25

Tabella 10: dati ecocardiografici Ventricolo destro alla prima visita

	PKP2	DSP	DSG2	MM
N° pazienti	46	59	37	28
Alterazioni dimensionali				
Dilatazione Vdx (n°)	24 (52%)	15 (25%)	11 (30%)	18 (64%)
ATD (cm2)	21±5	20±9	18±3,8	26±9,1
VTD (ml/m2)	74±28	66±23	59±34	85±26
Alterazioni della funzione ventricolare				
Depressione Funzione Vdx	9 (19%)	7(12%)	4(11%)	10(36%)
FE (%)	56±9	55±17	56±7	51±9
FA (%)	48±3	43±15	43±7	30±23
Alterazioni cinetiche segmentali				
Apice (n°)	11(24%)	9(15%)	7(19%)	11(39%)
Sottotricuspide (n°)	10 (22%)	14(24%)	5(13%)	15(54%)
Parete libera (n°)	6(13%)	9(15%)	3(8%)	12(43%)
Aspetti morfologici				
Trabecolatura (n°)	9(19%)	9(15%)	11(30%)	12(43%)
Disarrangiamento trasecolare (n°)	5(11%)	2(3%)	2(5%)	12(43%)
Banda moderatrice (n°)	5(11%)	5(8%)	7(19%)	5(18%)
Apice globoso (n°)	3(6%)	3(5%)	2(5%)	2(7%)
Ingrandimento RVOT4 (n°)	7(15%)	7(12%)	5(13%)	10(36%)
RVOT4 (mm)	3±1	3±0,6	3±0,7	3±0,8
RVOT1/Ao	1,1±0,1	1,1±0,2	1±0,1	1±0,1

Tabella 11 : dati ecocardiografici del Ventricolo sinistro alla prima visita

	PKP2	DSP	DSG2	MM
N° pazienti	46	59	37	28
Dilatazione Vsx (n°)	10 (22%)	6(10%)	3(8%)	7 (25%)
DTD (mm)	54±7	38±18	34±24	34±23
VTD (ml/m2)	63±13	58±10	57±12	68±18
Depressione Funzione Vdx (n°)	3 (6,5%)	5(8%)	0	3(11%)
FE (%)	61±12	62±7	62±4	60±7
Std (mm)	10±2	10±2	8±3	9±1
PPtd (mm)	9±2	9±2	7±3	9±1
Biventricolari (n°)	8 (17%)	9 (15%)	4 (11%)	8 (28%)

Tabella 12 : analisi dei dati ecocardiografici del Ventricolo sinistro alla prima visita

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP vs MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Dati ecocardiografici del Ventricolo destro						
ATD (cm²)	0,5	0,004	0,23	0,003	0,004	0,0001
VTD (ml/m²)	0,11	0,03	0,23	0,09	0,0001	0,001
Depressione funzione Vdx (n°)	0,32	0,31	0,88	0,10	0,01	0,01
FE (%)	0,72	1	0,73	0,02	0,24	0,01
FA (%)	0,02	0,0001	1	0,0001	0,002	0,001
Dilatazione Vdx (n°)	0,005	0,04	0,59	0,31	0,0007	0,008
Alterazioni cinetica apice (n°)	0,24	0,58	0,18	0,17	0,01	0,07
Alteraz cinetica ST (n°)	0,81	0,29	0,19	0,006	0,006	0,007
Alteraz cinetica PL (n°)	0,77	0,46	0,31	0,004	0,005	0,001
Trabecolatura (n°)	0,58	0,24	0,08	0,02	0,005	0,03
Disarrangiamento (n°)	0,1	0,32	0,61	0,002	0,001	0,0005
Banda Moderatrice (n°)	0,6	0,31	0,11	0,39	0,70	0,91
RVOT4 (mm)	1	1	1	1	1	1
RVOT4/Ao	1	1	1	1	1	1
Dati ecocardiografici del Ventricolo Sinistro						
	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP vs MM	DSP vs MM	DSG vs MM
VTD (ml/m²)	0,02	0,03	0,76	0,17	0,001	0,004
Dilatazione Vsx (n°)	0,09	0,08	0,74	0,76	0,06	0,06
FE (%)	0,59	0,62	1	0,68	0,21	0,15
Depressione funzione Vsx (n°)	0,77	1	1	1	0,64	1
Bi ventricolari (n°)	0,78	0,89	0,57	0,49	0,15	0,08
Dati ECG						
	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP vs MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Alterazioni ECG grafiche (n°)	0,48	0,34	0,72	0,003	0,002	0,0005
Presenza PPT (n°)	0,001	0,01	0,64	0,36	0,06	0,19

Tabella 13 : popolazione di studio al follow-up

	PKP2	DSP	DSG2	MM
N° soggetti con mutazione	31	40	20	22
M (%) / F (%)	18/13 (58%/42%)	21/19 (53%/47%)	10/10 (50%/50%)	14/8 (65%/36%)
Età media al FU.	45±18	36±19	40±20	47±10
Durata media F.U.	8±4	8±3	7±2	7±3
Pz affetti	21(68%)	20 (50%)	13 (65%)	19 (86%)
Healty carriers	10 (32%)	20 (50%)	7 (35%)	9 (41%)

Tabella 14 : analisi della popolazione di studio al follow-up

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP VS MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Durata media FU	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
Pz affetti	0,13	0,82	0,15	0,15	0,27	0,11
Healty carriers	0,13	0,82	0,50	0,27	0,69	0,49

Tabella 15 : dati elettrocardiografici al follow-up

N° pazienti	PKP2		DSP		DSG2		MM	
	31		40		20		22	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Alterazioni ECG (n°)	13	42	19	47	7	35	15	68
Bassi voltaggi (n°)	7	22,5	11	27,5	4	20	8	36
Ritardo dx (n°)	6	19	0	0	4	20	4	18
Blocco di branca dx (n°)	2	6,5	4	10	1	5	1	4,5
Durata QRS >110 msec	9	29	2	5	5	25	7	32
Onde T neg V1-V2 (n°)	3	9,6	3	7,5	1	5	1	4,5
Onde T neg V1-V3 (n°)	2	6,4	3	7,5	1	5	1	4,5
Onde T neg V3-V6 (n°)	0	0	1	2,5	1	5	0	0
Onde T neg oltre V3 (n°)	5	16	2	5	3	15	6	27
Onda Epsilon (n°)	1	3,2	6	15	1	5	2	9
Onde T neg inf (n°)	3	9,6	0	0	1	5	4	18
Upstroke S >25 (n°)	0	0	2	5	1	5	4	18
Prolonged TAD (n°)	0	0	5	12,5	4	20	4	18
Ratio QRS >1,2 (n°)	3	9,6	7	17,5	4	20	3	14
Par Block >25 (n°)	0	0	4	10	2	10	3	14
r>s in V1-V2 (n°)	0	0	0	0	1	5	3	14
Scarsa crescita r (n°)	3	9,6	12	30	4	20	3	14
QTc	409±98		422±31		391±113		462±72	

Tabella 16 : analisi dei dati elettrocardiografici al follow-up

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP vs MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Alterazioni ECG	0,67	0,61	0,37	0,06	0,01	0,03
Bassi voltaggi	0,01	0,86	0,28	0,26	0,36	0,25
Ritardo dx	0,05	0,93	0,05	0,92	0,007	0,86
Blocco di branca dx	0,6	0,82	0,51	0,75	0,44	0,93
Durata QRS >110	0,007	0,75	0,02	0,81	0,005	0,61
Onde T neg V1-V2	0,75	0,55	0,71	0,49	0,68	0,94
Onde T neg V1-V3	0,85	0,83	0,71	0,76	0,68	0,94
Onde T neg V3-V6	0,37	0,21	0,61	1	0,45	0,29
Onde T neg oltre V3	0,12	0,92	0,19	0,33	0,01	0,34
Onda epsilon	0,10	0,71	0,26	0,34	0,50	0,61
Onde T neg inf	0,05	0,55	0,15	0,37	0,39	0,19
Upstroke >25	0,21	0,21	1	0,01	0,10	0,19
Prolonged TAD	0,04	0,01	0,44	0,01	0,01	0,86
Ratio QRS >1,2	0,31	0,3	0,81	0,62	0,72	0,69
Par Block >25	0,07	0,07	1	0,03	0,63	0,01
r>s in V1-V2	1	0,21	0,16	0,03	0,01	0,33
Scarsa crescita r	0,04	0,29	0,41	0,62	0,16	0,61
QTc	0,43	0,54	0,24	0,03	0,003	0,01

Tabella 17 : dati dei potenziali tardivi ad alta risoluzione nel follow-up

	PKP2	DSP	DSG2	MM
N° pazienti	31	40	20	22
Presenza di PPT	12 (39%)	17 (45%)	10 (50%)	18(82%)
QRS25>120msec	132±22	123±22	130±18	137±22
HFLA25>40msec	34±15	30±22	37±22	41±17
RMS25<25µV	42±33	61±57	42±37	26±21
QRS40>118msec	124±24	117±23	121±16	132±26
HFLA40>40msec	46±20	39±21	43±18	57±23
RMS40<20µV	23±14	34±28	27±21	16±16
QRS80>106msec	113±22	105±22	108±16	118±24
HFLA80>34msec	46±19	40±21	40±17	54±21
RMS80<12µV	12±9	20±23	15±12	7±5

Tabella 18 : elaborazione dei dati dei potenziali tardivi ad alta risoluzione al follow-up

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP VS MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Presenza di PPT	0,39	0,29	0,72	0,001	0,0006	0,03
QRS25>120msec	0,09	0,73	0,22	0,41	0,02	0,27
HFLA25>40msec	0,38	0,56	0,25	0,11	0,02	0,51
RMS25<25µV	0,10	1	0,18	0,05	0,007	0,08
QRS40>118msec	0,21	0,62	0,48	0,25	0,02	0,11
HFLA40>40msec	0,16	0,58	0,46	0,06	0,003	0,03
RMS40<20µV	0,05	0,42	0,32	0,09	0,007	0,06
QRS80>106msec	0,13	0,38	0,59	0,43	0,003	0,12
HFLA80>34msec	0,21	0,25	1	0,15	0,01	0,02
RMS80<12µV	0,07	0,31	0,33	0,02	0,01	0,006

Tabella 19: dati ecocardiografici del ventricolo destro al follow-up

	PKP2	DSP	DSG2	MM
N° pazienti	31	40	20	22
Alterazioni dimensionali				
Dilatazione Vdx (n°)	20 (65%)	20 (50%)	11(55%)	15(68%)
ATD (cm²)	26±8	25±16	24±9	27±8
VTD (ml/m²)	87±14	67±23	72±41	87±29
LAX (mm)	87±14	75±9	85±11	82±18
SAX (mm)	31±6	27±7	27±7	33±8
RVIT3 (mm)	45±11	43±11	38±8	47±13
Alterazioni della funzione ventricolare				
Depressione Funzione Vdx (n°)	10 (32%)	7(17%)	6(30%)	11(50%)
FE (%)	51±7	56±9	54±11	49±9
FA (%)	44±8	43±13	43±7	34±10
Alterazioni cinetiche segmentali				
Apice (n°)	11 (35%)	7(17%)	6(30%)	9(41%)
Sottotricuspide (n°)	16 (52%)	10(25%)	6(30%)	12(54%)
Parete libera (n°)	11(35%)	9(22%)	6(30%)	10 (45%)
Aspetti morfologici				
Trabecolatura (n°)	13 (42%)	11(27%)	6(30%)	10 (45%)
Disarrangiamento trabecolare (n°)	9 (29%)	1 (2,5%)	4(20%)	7 (32%)
Banda moderatrice (n°)	6 (19%)	7(17%)	3(15%)	7 (32%)
RVOT4 (mm)	3,6±0,7	3,4±0,9	3,4±0,8	4±0,7
RVOT4/Ao	1,1±0,2	1,1±0,2	1,1±,2	1,2±0,3

Tabella 20: dati ecocardiografici del ventricolo sinistro al follow-up

	PKP2	DSP	DSG2	MM
N° pazienti	31	40	20	22
Dilatazione Vsx (n°)	9 (29%)	10(25%)	3(15%)	4(18%)
DTD (mm)	50±5	48±6	46±13	39±21
VTD (ml/m²)	68±13	63±12	61±9	66±20
Depressione Funzione Vdx (n°)	3	5(12%)	3(15%)	6(27%)
FE (%)	61±6	61±7	59±7	55±11
Std (mm)	10±2	10±3	9±2	9±2
PPtd (mm)	9±1	9±3	9±1	9±2
Biventricolari	8 (17%)	9 (22%)	4 (20%)	10 (45%)

Tabella 21: analisi dei dati ecocardiografici nei diversi gruppi tra I[^] e II[^] visita

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP vs MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Dati ecocardiografici del Ventricolo destro						
ATD (cm²)	0,75	0,41	0,79	0,65	0,20	0,25
VTD (ml/m²)	0,0001	0,0005	0,54	NS	0,004	0,17
LAX (mm)	0,0001	0,59	0,0004	0,26	0,04	0,52
SAX (mm)	0,013	0,03	NS	0,30	0,003	0,01
RVIT3 (mm)	0,44	0,01	0,07	0,54	0,2	0,01
Depressione funzione Vdx (n°)	0,22	0,88	0,25	0,19	0,007	0,19
FE	Ns	0,23	0,45	0,36	0,048	0,11
FA	0,67	0,64	NS	0,73	0,006	0,001
Dilatazione Vdx (n°)	0,21	0,47	0,77	0,82	0,17	0,39
Alterazioni cinetica apice (n°)	0,08	0,71	0,25	0,65	0,04	0,46
Alteraz cinetica ST (n°)	0,02	0,12	0,68	0,88	0,02	0,12
Alteraz cinetica PL (n°)	0,22	0,71	0,50	0,46	0,06	0,32
Trabecolatura (n°)	0,18	0,39	0,80	0,82	0,001	0,32
Disarrangiamento (n°)	0,017	0,47	0,01	0,81	0,17	0,38
Banda Moderatrice (n°)	0,82	0,71	0,84	0,19	0,008	0,20
RVOT4 (mm)	0,25	0,35	NS	0,04	0,12	0,01
RVOT4/Ao	NS	NS	NS	0,15	0,12	0,21
Dati ecocardiografici del Ventricolo Sinistro						
	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP vs MM	DSP vs MM	DSG vs MM
VTD (ml/m²)	0,09	0,04	0,51	0,66	0,46	0,31
Dilatazione Vsx (n°)	0,71	0,25	0,39	0,37	0,54	0,74
FE (%)	1	0,28	0,30	0,01	0,01	0,01
Depressione funzione Vsx (n°)	0,68	0,51	0,75	0,1	0,15	0,34
Biventricolari (n°)	0,6	0,7	0,85	0,02	0,06	0,09
Dati ECG						
	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSG vs DSP	PKP vs MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Alterazioni ECG grafiche (n°)	0,67	0,61	0,37	0,06	0,01	0,03
Presenza PPT (n°)	0,39	0,29	0,72	0,001	0,0006	0,03

Tabella 22: comparazione dei dati ecocardiografici tra la prima visita e l'ultima visita di follow-up

	PKP I^vs PKP fu	DSP I^vs DSP fu	DSG I^vs DSG fu	MMI^ vs MMfu
Dilatazione Vdx	0,26	0,01	0,06	0,76
ATD	0,001	0,08	0,008	0,68
VTD (Vdx)	0,02	0,85	0,2	0,79
Depressione funzione Vdx	0,19	0,48	0,07	0,44
FE (%)	0,01	0,76	0,40	0,43
FA (%)	0,002	1	1	0,45
Apice	0,29	0,78	0,34	0,88
Sottotricuspide	0,008	0,91	0,12	0,77
Parete laterale	0,02	0,37	0,12	0,88
Trabecolatura	0,03	0,14	1	0,88
Disarrangiamento trabecolare	0,04	1	0,08	0,43
Banda moderatrice	0,32	0,17	0,92	0,26
RVOT4	0,005	0,02	0,05	0,001
RVOT4/Ao	1	1	1	0,001
Dilatazione Vsx	0,5	0,05	0,41	0,55
VTD Vsx	0,1	0,05	0,19	0,71
Depressione funzione Vsx	0,61	0,50	-	0,15
Forme Biventricolari	1	0,37	0,35	0,21

Tabella 23: comparazione dei dati elettrocardiografici tra la prima visita e l'ultima visita di follow-up

	PKP vs PKP	DSP vs DSP	DSG vs DSG	MM VS MM
Alterazioni ECG	0,2	0,01	0,18	0,76
Bassi voltaggi	0,04	0,26	0,19	1
Ritardo dx	0,9	0,24	0,09	0,92
Blocco di branca dx	0,31	0,007	0,65	0,87
Durata QRS >110	0,62	0,07	0,03	0,58
Onde T neg V1-V2	0,35	0,87	0,65	0,87
Onde T neg V1-V3	0,63	0,14	0,45	0,04
Onde T neg V3-V6	0,44	0,53	0,17	0,37
Onde T neg oltre V3	0,52	0,33	0,08	0,62
Onda epsilon	0,22	0,002	0,17	0,42
Onde T neg inf	0,62	0,43	0,17	0,79
Upstroke S >25	0	0,72	0,65	0,70
Prolonged TAD	0	0,18	0,03	0,23
Ratio QRS >1,2	0,03	0,01	0,09	0,75
Par Block >25	0	0,06	0,52	0,42
r>s in V1-V2	0	0	0,94	0,75
Scarsa crescita r	0,13	0,0003	0,08	0,42
QTc	0	0	0	0

Tabella 24: dati di risonanza magnetica nucleare cardiaca

	Totale	PKP	DSP	DSG	MM
N° pazienti	16	3	8	3	2
M/F	9/7	2/1	5/3	3/0	1/1
Età media (anni)	28±16	18±5	24±10	33±20	54±20
Diagnosi ARVC alla visita	4 (25%)	0	1 (12,5%)	2 (67%)	1 (50%)
Alterazioni dimensioni Vdx	6 (37%)	0	1 (12,5%)	2 (67%)	1 (50%)
Alterazioni dimensioni Vsx	2 (12,5%)	0	0	1 (33%)	1 (50%)
Alterazione cinetica Vdx	6 (37%)	1 (33%)	1 (12,5%)	2 (67%)	2 (100%)
Alterazione cinetica Vsx	3 (18,7%)	0	0	1 (33%)	2 (100%)
Late Enhancement dx	2 (12,5%)	1 (33%)	1 (12,5%)	0	0
Late Enhancement sx	4 (25%)	1 (33%)	3 (37,5)	0	0
Late Enhancement sx- dx	4 (25%)	0	1 (12,5%)	2 (67%)	1 (50%)
Diagnosi alla RMC	12 (62,5%)	1 (33%)	5 (62,5%)	2 (67%)	2 (100%)

Tabella 25. elaborazione dei dati di risonanza magnetica nucleare cardiaca

	PKP vs DSP	PKP vs DSG	DSP vs DSG	PKP vs MM	DSP vs MM	DSG vs MM
Diagnosi ARVC alla visita	0,54	0,15	0,10	0,26	0,26	0,72
Alterazioni dimensioni Vdx	0,54	0,15	0,10	0,26	0,26	0,72
Alterazioni dimensioni Vsx	-	0,35	0,12	0,26	0,06	0,73
Alterazione cinetica Vdx	0,46	0,45	0,14	0,23	0,04	0,43
Alterazione cinetica Vsx	-	0,33	0,12	-	1	0,23
Late Enhancement dx	0,46	0,33	0,56	0,43	0,61	-
Late Enhancement sx	0,89	0,33	0,24	0,43	0,33	-
Late Enhancement sx- dx	0,53	0,15	0,10	0,26	0,27	0,73
Diagnosi alla RMC	0,40	0,45	0,89	0,23	0,33	0,43

Tabella 26: Dati ecocardiografici Ventricolo destro dei probandi

	PKP2	DSP	MM
N° probandi/Tot mutati	13/46	10/59	15/28
% di probandi	28%	17%	53%
Età media dei probandi I^{vis}	38±19	27±13	42±12
Eta media alla diagnosi	35±18	24±8	40±13
Alterazioni ECG	8 (61%)	5 (50%)	13 (87%)
Presenza PPT	6 (46%)	5 (50%)	8 (53%)
Dilatazione Vdx (n°)	12 (92%)	9 (90%)	14 (93%)
VTD (ml/m2)	93±27	80±22	90±22
FE (%)	51±11	54±10	48±8
Apice	10	4 (40%)	8(53%)
Sottotricuspide	9	5 (50%)	10 (66%)
Parete libera	5	5(50%)	9 (60%)

Tabella 27 : dati ecocardiografici del Ventricolo sinistro dei probandi

	PKP2	DSP	MM
N° probandi/Tot. mutati	13/46	10/59	15/28
Dilatazione Vsx	6 (46%)	2(20%)	4 (26%)
VTD	72±13	64±11	66±10
FE	61±5	61±9	60±6
Biventricolari	3 (23%)	2 (20%)	2 (13%)

Tabella 28 : dati ecocardiografici del Ventricolo sinistro dei probandi

	PKP vs DSP	PKP vs MM	DSP vs MM
% di probandi/tot. Pz mutati	0.17	0.08	0.0001
Età alla prima visita	0.13	0.51	0.007
Età alla diagnosi	0.08	0.42	0.002
VTD Vdx	0.23	0.74	0.27
FE Vdx	0.51	0.41	0.10
Dilatazione Vdx	0.86	0.92	0.79
Alterazioni cinetica apice	0.08	0.19	0.53
Alteraz cinetica ST	0.34	0.82	0.43
Alteraz cinetica PL	0.57	0.25	0.62
VTD(sx)	0.13	0.17	0.64
Dilatazione Vsx	0.20	0.27	0.73
FE Vsx	1	0.64	0.74
Alterazioni ECG grafiche	0.63	0.12	0.05
Presenza PPT	0.85	0.71	0.88

Tabella 29: Dati ecocardiografici Ventricolo destro dei familiari

	PKP2	DSP	MM
N° Familiari/Tot. mutati	33/46	49/59	13/28
Età media	35±19	33±21	40±24
Età media alla diagnosi	34 ±21	39±16	20±18
Alterazioni ECG	6 (18%)	8(16%)	3 (23%)
Presenza PPT	7 (21%)	7 (14%)	3(23%)
Dilatazione Vdx (n°)	13 (40%)	6 (12%)	4 (31%)
VTD (ml/m2)	60±23	59±21	74±30
FE (%)	59±6	55±19	56±7
Apice	2 (6%)	5 (10%)	2 (15%)
Sottotricuspide	3 (10%)	9 (18%)	3 (23%)
Parete libera	2 (6%)	4 (8%)	1 (7%)

Tabella 30 : dati ecocardiografici del Ventricolo sinistro dei familiari

	PKP2	DSP	MM
N° familiari/Tot. mutati	33/46	49/59	13/28
Dilatazione Vsx	3 (10%)	3 (6%)	2(15%)
VTD	59±13	56±9	72±29
FE	60±3	63±6	58±8
Biventricolari	2 (6%)	2 (4%)	1 (7%)

Tabella 31 : dati ecocardiografici del Ventricolo sinistro dei familiari

	PKP vs DSP	PKP vs MM	DSP vs MM
N° familiari/Tot mutati	33/46	49/59	13/28
Età alla prima visita	0.66	0.46	0.30
Età alla diagnosi	0.22	0.04	0.0005
VTD Vdx	0.83	0.09	0.04
FE Vdx	0.24	0.15	0.85
Dilatazione Vdx	0.004	0.40	0.10
Alterazioni cinetica apice	0.52	0.21	0.61
Alteraz cinetica ST	0.31	0.13	0.68
Alteraz cinetica PL	0.73	0.85	0.9
VTD(sx)	0.22	0.04	0.001
Dilatazione Vsx	0.50	0.63	0.37
FE Vsx	0.009	0.21	0.01
Alterazioni ECG grafiche	0.81	0.58	0.55
Presenza PPT	0.41	0.81	0.43

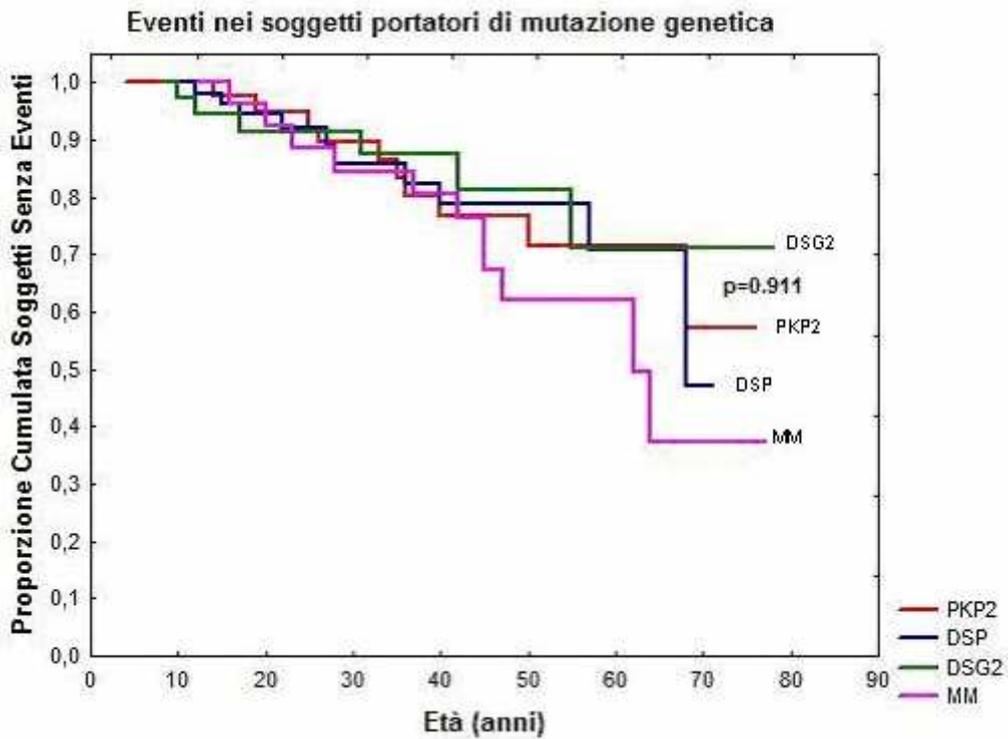


Grafico 1: Sopravvivenza libera da eventi nei pazienti portatori delle varie mutazioni

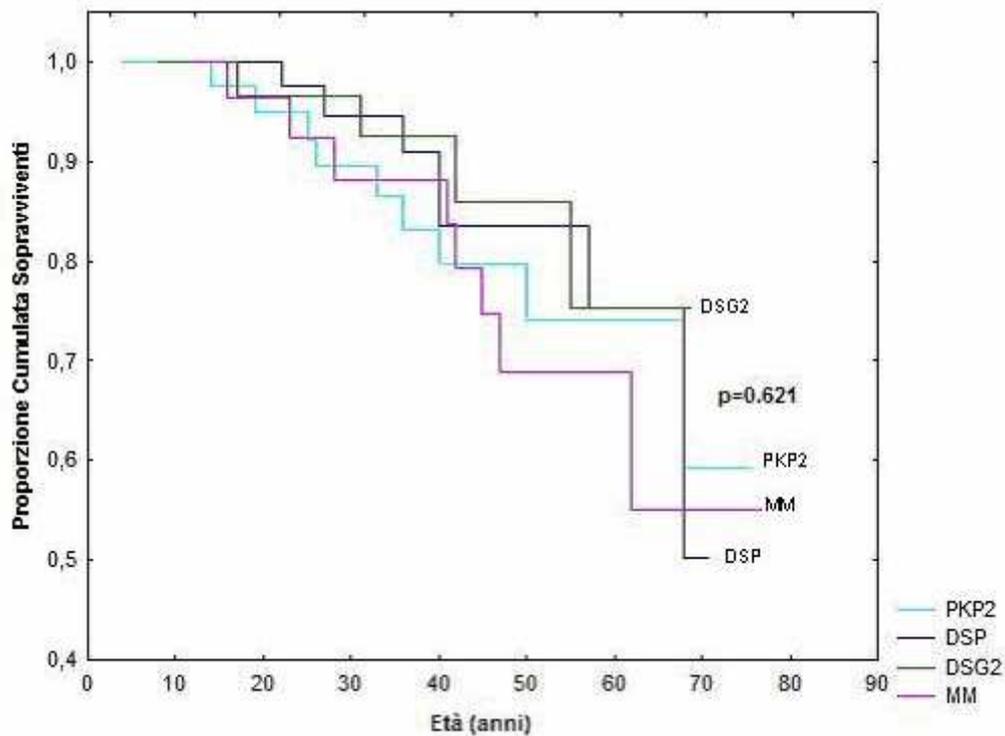


Grafico 2: Sopravvivenza libera da episodi sincopali e di TV sostenuta nei pazienti portatori delle varie mutazioni

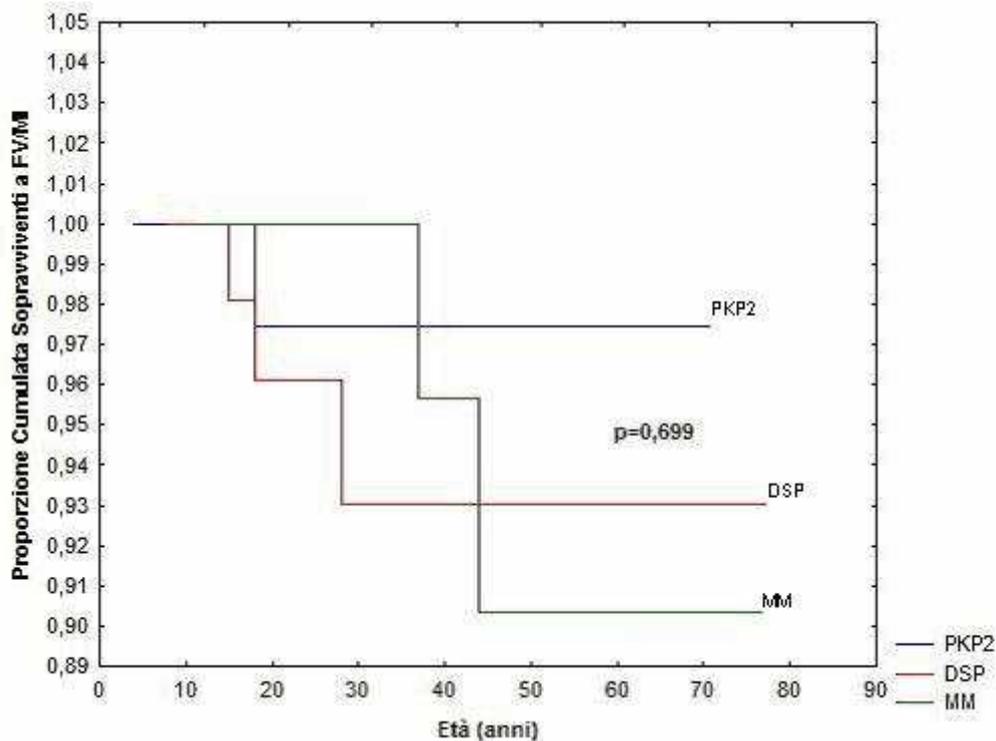


Grafico 3: Sopravvivenza libera da episodi di FV e morte improvvisa nei pazienti portatori delle varie mutazioni

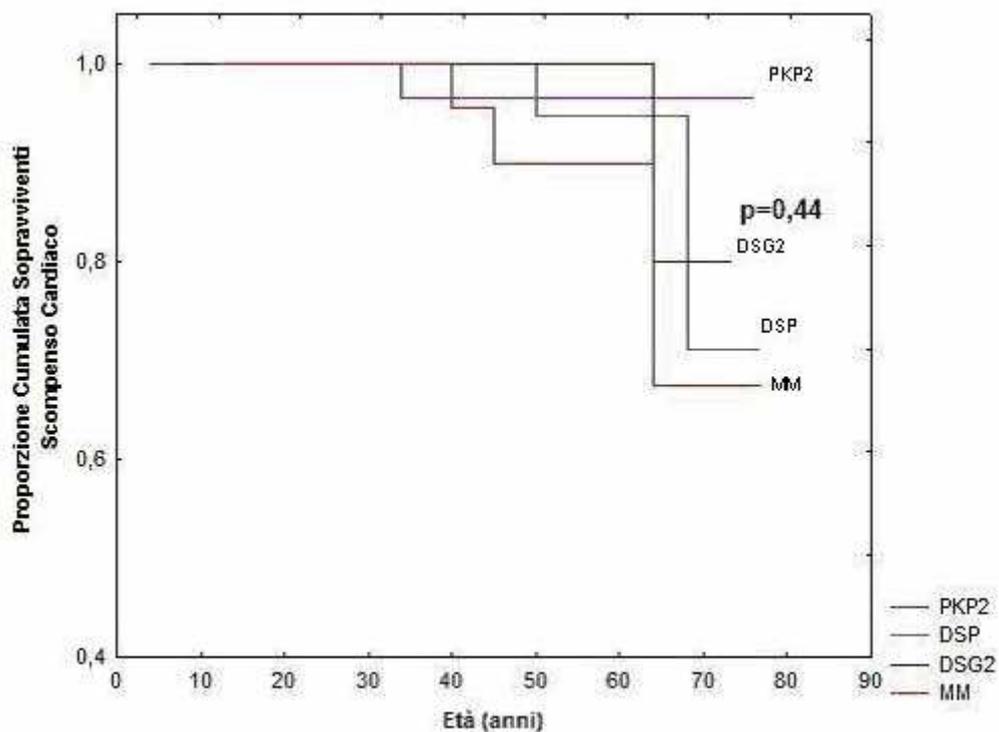


Grafico 4: Sopravvivenza libera da episodi di SCOMPENSO CARDIACO nei pazienti portatori delle varie mutazioni

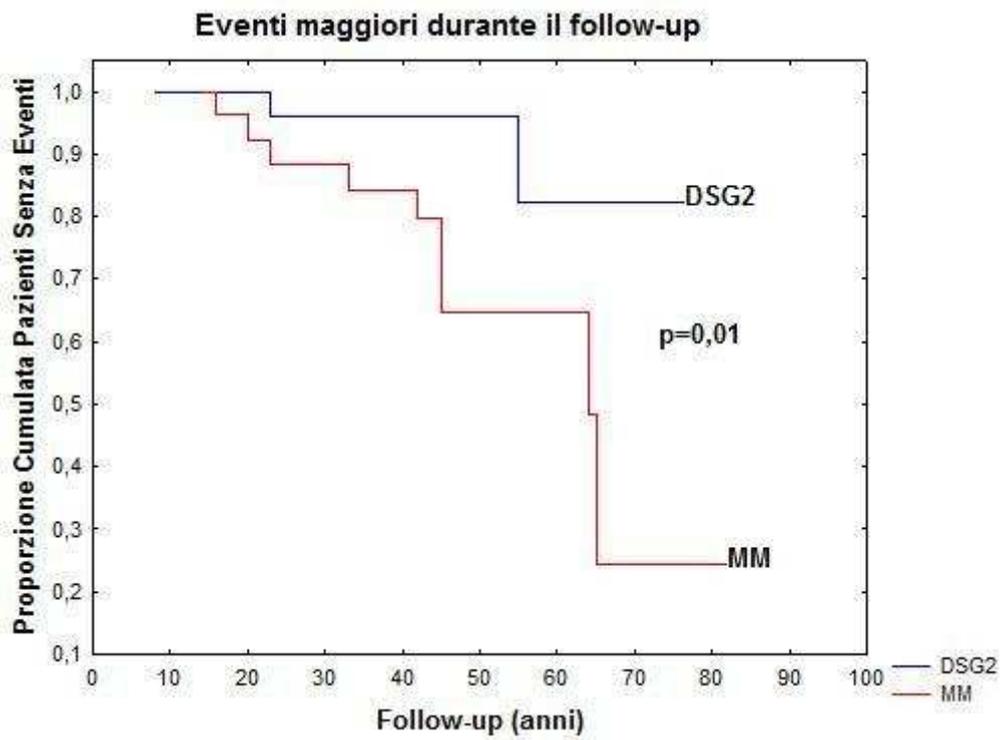


Grafico 5: Sopravvivenza libera da eventi maggiori nel follow-up dei pazienti portatori delle mutazioni DSG2 ed MM

Bibliografia

1. Lancisi GM: *De Motu Cordis et Aneurysmatibus*. Naples 1736.
2. Dalla Volta S, Battaglia G, Zerbini E: **"Auricularization" of right ventricular pressure curve**. *Am Heart J* 1961, **61**:25-33.
3. Nava A, Thiene G, Canciani B, Scognamiglio R, Daliento L, Buja GF, 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.
4. Maron BJ: **Right ventricular cardiomyopathy: another cause of sudden death in the young**. *N Engl J Med* 1988, **318**:178-180.
5. Thiene G, Corrado D, Basso C. **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia** *Orphanet J Rare Dis*. 2007 **14**;2:45.
6. Thiene G, Nava A, Corrado D, Rossi L, Pennelli N: **Right ventricular cardiomyopathy and sudden death in young people**. *N Engl J Med* 1988, **318**:129-133.
7. Sen Chowdhry S. , Syrris P, Ward D, Asimaki A, Sevdalis E, McKenna W. **Clinical and Genetic characterization of families with Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy Provides Novel Insights into Patterns of disease expression** *Circulation* 2007; **115**:1710- 1720.
8. Baucé B, Frigo G, Marcus FI, Basso C, Rampazzo A, Maddalena F, Corrado D, Winniki M, Daliento L, Rigato I, Steriotis A, Mazzotti E,

- Thiene G, Nava A. **Comparasion of clinical features of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in men versus women.** *AM J Cardiol* 2008 Nov 1; 102(9): 1252- 7
9. Basso C, Ronco F, Marcus F, Abudureheaman A, Rizzo S, Frigo AC, Bauce B, Maddalena F, Nava A, Corrado D, Grigoletto F, Thiene G. **Quantitative assessment of endomyocardial biopsy in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: an in vitro validation of diagnostic criteria.** *Eur Heart J.* 2008 Nov ;29(22):2760- 71.
- 10.Lindstrom L, Nylander E, Larsson H, Wranne B. **Left ventricular involvement in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy—a scintigraphic and echocardiographic study.** *Clin Physiol Funct Imaging* 2005;25:171–7.
- 11.Sen-Chowdhry S, Lowe MD, Sporton SC, McKenna WJ. **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: clinical presentation, diagnosis, and management.** *Am J Med* 2004;117:685–95.
- 12.Nava A, Bauce B, Basso C, et al. **Clinical profile and long-term follow-up of 37 families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *J Am Coll Cardiol* 2000;36:2226 –33.
- 13.Sen-Chowdhry S, Syrris P, McKenna WJ. **Desmoplakin disease in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: early genotypephenotype studies.** *Eur Heart J* 2005;26:1582– 4.

14. Kirchhof P, Fabritz L, Zwiener M, et al. **Age- and trainingdependent development of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in heterozygous plakoglobin-deficient mice.** *Circulation* 2006;114:1799 – 806.
15. Sen-Chowdhry S, Prasad SK, Syrris P, et al. **Cardiovascular magnetic resonance in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy revisited: comparison with task force criteria and genotype.** *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2132– 40.
16. Hodgkinson KA, Parfrey PS, Bassett AS, et al. **The impact of implantable cardioverter-defibrillator therapy on survival in autosomal dominant arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVD5).** *J Am Coll Cardiol* 2005;45:400–8. *JACC* Vol. 50, No. 19, 2007
17. Basso C, Thiene G, Corrado D, Angelini A, Nava A, Valente M: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: dysplasia, dystrophy or myocarditis ?** *Circulation* 1996, **94**:983-991.
18. McKenna WJ, Thiene G, Nava A, Fontaliran F, Blomstrom-Lundqvist C, Fontaine G, Camerini F: **Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. Task Force of the Working Group Myocardial and Pericardial Disease of the European Society of Cardiology and of the Scientific Council on Cardiomyopathies of the International Society and Federation of Cardiology.** *Br Heart J* 1994, **71**:215-218.

19. Wichter T, Borggrefe M, Haverkamp W, Chen X, Breithardt G: **Efficacy of antiarrhythmic drugs in patients with arrhythmogenic right ventricular disease. Results in patients with inducible and noninducible ventricular tachycardia.** *Circulation* 1992, **86**:29-37.
20. Rampazzo A, Danieli GA: **Arrhythmogenic in right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. Advances in genetics: Dominant forms.** In *Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia* Edited by: Marcus FI, Nava A, Thiene G. Milano: Springer; 2007:7-14.
21. Norman MW, McKenna WJ: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: perspectives on diseases.** *Z Kardiol* 1999, **88**:550-554.
22. Scognamiglio R, Fasoli G, Nava A, Miraglia G, Thiene G, Dalla-Volta S: **Contribution of cross-sectional echocardiography to the diagnosis of right ventricular dysplasia at the asymptomatic stage.** *Eur Heart J* 1989, **10**:538-542.
23. Daliento L, Rizzoli G, Thiene G, Nava A, Rinuncini M, Chioin R, Dalla Volta S: **Diagnostic accuracy of right ventriculography in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Am J Cardiol* 1990, **66**:741-745.
24. Turrini P, Angelini A, Thiene G, Buja G, Daliento L, Rizzoli G, Nava A: **Late potentials and ventricular arrhythmias in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Am J Cardiol* 1999, **83**:1214-1219.

25. Rampazzo A, Nava A, Danieli GA, Buja G, Daliento L, Fasoli G, Scognamiglio R, Corrado D, Thiene G: **The gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy maps to chromosome 14q23-q24.** *Hum Mol Genet* 1994, **3**:959-962.
26. Richardson P, McKenna , Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, Goodwin J, Gyarfás I, Martin I, Nordet P: **Report of the 1995 WHO/ISFC Task Force on the definition and classification of cardiomyopathies.** *Circulation* 1996, **93**:841-842.
27. Mallat Z, Tedgui A, Fontaliran F, Frank R, Durigon M, Fontaine G: **Evidence of apoptosis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia.** *N Engl J Med* 1996, **335**:1190-1196.
28. Valente M, Calabrese F, Thiene G, Angelini A, Basso C, Nava A, Rossi L: **In vivo evidence of apoptosis in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Am J Pathol* 1998, **152**:479-484.
29. Corrado D, Fontaine G, Marcus FI, McKenna WJ, Nava A, Thiene G, Wichter T: **Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: Need for an international registry. Study Group on Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy of the Working Groups on Myocardial and Pericardial Disease and Arrhythmias of the European Society of Cardiology and of the Scientific Council on Cardiomyopathies of the World Heart Federation.** *Circulation* 2000, **101**:E101-E106.

30. Marcus F, Towbin JA, Zareba W, Moss A, Calkins H, Brown M, Gear K: **ARVD/C investigators. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy (ARVD/C): a multidisciplinary study: design and protocol.** *Circulation* 2003, **107**:2975-2978.
31. Basso C, Wichter T, Danieli GA, Corrado D, Czarnowska E, Fontane G, McKenna WJ, Nava A, Protonotarios N, Antoniadis L, Wlodarska K, D'Alessi F, Thiene G: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: clinical registry and database, evaluation of therapies, pathology registry, DNA banking.** *Eur Heart J* 2004, **25**:531-534.
32. Fox PR, Maron BJ, Basso C, Liu SK, Thiene G: **Spontaneously occurring arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in the domestic cat: A new animal model similar to the human disease.** *Circulation* 2000, **102**:1863-1870.
33. Basso C, Fox PR, Meurs KM, Towbin JA, Spier AW, Calabrese F, Maron BJ, Thiene G: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy causing sudden cardiac death in boxer dogs: a new animal model of human disease.** *Circulation* 2004, **109**:1180-1185.
34. Protonotarios N, Tsatsopoulou A, Patsourakos P, Alexopoulos D, Gezerlis P, Simitsis S, Scampardonis G: **Cardiac abnormalities in familial palmoplantar keratosis.** *Br Heart J* 1986, **56**:321-326.
35. McKoy G, Protonotarios N, Crosby A, Tsatsopoulou A, Anastasakis A, Coonar A, Norman M, Baboonian C, Jeffery S, McKenna WJ:

Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease). *Lancet* 2000, **355**:2119-2124

36. Rampazzo A, Nava A, Malacrida S, Beffagna G, Bauce B, Rossi V, Zimbello R, Simionati B, Basso C, Thiene G, Towbin JA, Danieli GA: **Mutation in human desmoplakin domain binding to plakoglobin causes a dominant form of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Am J Hum Genet* 2002, **71**:1200-1206.

37. Gerull B, Heuser A, Wichter T, Paul M, Basson CT, McDermott DA, Lerman BB, Markowitz SM, Ellinor PT, MacRae CA, Peters S, Grossmann KS, Michely B, Sasse-Klaassen S, Birchmeier W, Dietz R, Breithardt G, Schulze-Bahr E, Thierfelder L: **Mutations in the desmosomal protein plakophilin-2 are common in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Nat Genet* 2004, **36**:1162-1164.

38. Pilichou K, Nava A, Basso C, Beffagna G, Bauce B, Lorenzon A, Frigo G, Vettori A, Valente M, Towbin J, Thiene G, Danieli GA, Ramazzo A: **Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Circulation* 2006, **113**:1171-1179.

39. Syrris P, Ward D, Evans A, Asimaki A, Gandjbakhch E, Sen-Chowdhry S, McKenna WJ: **Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in the desmosomal gene desmocollin-2.** *Am J Hum Genet* 2006, **79**:978-984.

40. Basso C, Czarnowska E, Della Barbera M, Bauce B, Beffagna G, Wlodarska EK, Pilichou K, Ramondo A, Lorenzon A, Wozniak O, Corrado D, Daliento L, Danieli GA, Valente M, Nava A, Thiene G, Rampazzo A: **Ultrastructural evidence of intercalated disc remodelling in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: an electron microscopy investigation on endomyocardial biopsies.** *Eur Heart J* 2006, **27**:1847-1854.
41. Tiso N, Stephan DA, Nava A, Bagattin A, Devaney JM, Stanchi F, Larderet G, Brahmhatt B, Brown K, Bauce B, Muriago M, Basso C, Thiene G, Danieli GA, Rampazzo A: **Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2).** *Hum Mol Genet* 2001, **10**:189-194.
42. Beffagna G, Occhi G, Nava A, Vitiello L, Ditadi A, Basso C, Bauce B, Carraro G, Thiene G, Towbin JA, Danieli GA, Rampazzo A: **Regulatory mutations in transforming growth factor-beta3 gene cause arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 1.** *Cardiovasc Res* 2005, **65**:366-373.
43. Bauce B, Rampazzo A, Basso C, Bagattin A, Daliento L, Tiso N, Turrini P, Thiene G, Danieli GA, Nava A: **Screening for ryanodine receptor type 2 mutations in families with effort-induced polymorphic ventricular arrhythmias and sudden death.** *J Am Coll Cardiol* 2002, **40**:341-349.

44. Alcalai R, Metzger S, Rosenheck S, Meiner V, Chajek-Shaul T. **A recessive mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia, skin disorder, and woolly hair.** *J Am Coll Cardiol* 2003;42:319–27.
45. Uzumcu A, Norgett EE, Dindar A, et al. **Loss of desmoplakin isoform I causes early onset cardiomyopathy and heart failure in a Naxos-like syndrome.** *J Med Genet* 2006;43:e5.
46. Dalal D, Molin LH, Piccini J, et al. **Clinical features of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in plakophilin-2.** *Circulation* 2006;113:1641–9.
47. Nagaoka I, Matsui K, Ueyama T, et al. **Novel mutation of plakophilin-2 associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Circ J* 2006;70:933–5.
48. Kannankeril PJ, Bhuiyan ZA, Darbar D, Mannens MM, Wilde AA, Roden DM. **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy due to a novel plakophilin 2 mutation: wide spectrum of disease in mutation carriers within a family.** *Heart Rhythm* 2006;3:939–44.
49. Awad MM, Dalal D, Tichnell C, et al. **Recessive arrhythmogenic right ventricular dysplasia due to novel cryptic splice mutation in PKP-2.** *Hum Mutat* 2006;27:1157.
50. Awad MM, Dalal D, Cho E, et al. **DSG2 mutations contribute to arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy.** *Am J Hum Genet* 2006;79:136–42.

- 51.Syrris P, Ward D, Asimaki A, et al. **Desmoglein-2 mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a genotypephenotype characterization of familial disease.** *Eur Heart J* 2007;28: 581–8.
- 52.Heuser A, Plovie ER, Ellinor PT, et al. **Mutant desmocollin-2 causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Am J Hum Genet* 2006;79:1081– 8.
- 53.Nattel S, Schott JJ. **Arrhythmogenic right ventricular dysplasia type 1 and mutations in transforming growth factor beta3 gene regulatory regions: a breakthrough?** *Cardiovasc Res* 2005;65:302– 4.
- 54.Priori SG, Napolitano C. **Role of genetic analyses in cardiology: part I: mendelian diseases: cardiac channelopathies.** *Circulation* 2006;113:1130–5.
- 55.Bauce B, Basso C, Rampazzo A, Beffagna G, Daliento L, Frigo G, Malacrida S, Settimo L, Danieli G, Thiene G, Nava A: **Clinical profile of four families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by dominant desmoplakin mutations.** *Eur Heart J* 2005, **26**:1666-1675.
- 56.Protonotarios N, Tsatsopoulou A, Anastasakis A, Sevdalis E, McKoy G, Stratos K, Gatzoulis K, Tentolouris K, Spiliopoulou C, Panagiotakos D, McKenna W, Toutouzas P: **Genotype-phenotype assessment in autosomal recessive arrhythmogenic right ventricular**

cardiomyopathy (Naxos disease) caused by a deletion in plakoglobin.
J Am Coll Cardiol 2001, **38**:1477-1484.

57. Sen-Chowdhry S, Syrris P, Ward D, Asimaki A, Sevdalis E, McKenna WJ: **Clinical and genetic characterization of families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy provides novel insights into patterns of disease expression.** *Circulation* 2007, **115**:1710-1720.

58. 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: **Implantable cardioverter-defibrillator therapy for prevention of sudden death in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia.** *Circulation* 2003, **108**:3084-3091.

59. Corrado D, Basso C, Leoni L, Tokajuk B, Bauce B, Frigo G, Tarantini G, Napodano M, Turrini P, Ramondo A, Daliento L, Nava A, Buja G, Iliceto S, Thiene G: **Three-dimensional electroanatomic voltage mapping increases accuracy of diagnosing arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia.** *Circulation* 2005, **111**:3042-3050.

60. Garcia-Gras E, Lombardi R, Giocondo MJ, Willerson JT, Schneider MD, Khoury DS, Marian AJ: **Suppression of canonical Wnt/betacatenin signaling by nuclear plakoglobin recapitulates phenotype of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *J Clin Invest* 2006, **116**:2012-2021.

61. Yang Z, Bowles NE, Scherer SE, Taylor MD, Kearney DL, Ge S, Nadvoretskiy VV, DeFreitas G, Carabello B, Brandon LI, Godsel LM, Green KJ, Saffitz JE, Li H, Danieli GA, Calkins H, Marcus F, Towbin JA: **Desmosomal dysfunction due to mutations in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy.** *Circ Res* 2006, **99**:646-655.
62. Thiene G, Nava A, Angelini A, Daliento L, Scognamiglio R, Corrado D: **Anatomoclinical aspects of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** In *Advances in cardiomyopathies* Edited by: Baroldi G, Camerini F, Goodwin JF. Milano: Springer Verlag; 1990:397-408.
63. Corrado D, Thiene G, Nava A, Rossi L: **Sudden death in young competitive athletes: clinicopathologic correlations in 22 cases.** *Am J Med* 1990, **89**:588-596.
64. Marcus F: **Prevalence of T-wave inversion beyond V1 in young normal individuals and usefulness for the diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia.** *Am J Cardiol* 2005, **95**:1070-1071.
65. Fontaine G: **Arrhythmogenic right ventricular dysplasia.** *Curr Opin Cardiol* 1995, **10**:16-20.
66. Turrini P, Corrado D, Basso C, Nava A, Bauce B, Thiene G: **Dispersion of ventricular depolarization-repolarization: a non-invasive marker**

- for risk stratification in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Circulation* 2001, **103**:3075-3080.
67. Basso C, Thiene G: **Adipositas cordis, fatty infiltration of the right ventricle, and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Just a matter of fat?** *Cardiovasc Pathol* 2005, **14**:37-41.
68. Uhl HS: **A previously undescribed congenital malformation of the heart: almost total absence of the myocardium of the right ventricle.** *Bull Johns Hopkins Hosp* 1952, **91**:197-209.
69. Daliento L, Turrini P, Nava A, Rizzoli G, Angelini A, Buja G, Scognamiglio R, Thiene G: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in young versus adult patients: similarities and differences.** *J Am Coll Cardiol* 1995, **25**:655-664.
70. 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: **Spectrum of clinicopathologic manifestations of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: a multicenter study.** *J Am Coll Cardiol* 1997, **30**:1512-1520.
71. Thiene G, Angelini A, Basso C, Calabrese F, Valente M: **Novel heart diseases requiring transplantation.** *Adv Clin Path* 1998, **2**:65-73.
72. 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.

- 73.Thiene G, Basso C: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: An update.** *Cardiovasc Pathol* 2001, **10**:109-117.
- 74.Bowles NE, Ni J, Marcus F, Towbin JA: **The detection of cardiotropic viruses in the myocardium of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy.** *J Am Coll Cardiol* 2002, **39**:892-895.
- 75.Calabrese F, Basso C, Carturan E, Valente M, Thiene G: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: is there a role for viruses?** *Cardiovasc Pathol* 2006, **15**:11-17.
- 76.Angelini A, Thiene G, Boffa G, Calliari I, Daliento L, Valente M, Chioin R, Nava A, Dalla Volta S: **Endomyocardial biopsy in right ventricular cardiomyopathy.** *Int J Cardiol* 1993, **40**:273-282.
- 77.Angelini A, Basso C, Nava A, Thiene G: **Endomyocardial biopsy in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Am Heart J* 1996, **132**:203-206.
- 78.Le Guludec D, Slama MS, Frank R, Faraggi M, Grimon G, Bourguignon MH, Motte G: **Evaluation of radionuclide angiography in diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *J Am Coll Cardiol* 1995, **26**:1476-1483.
- 79.Hamid MS, Norman M, Quraishi A, Firoozi S, Thaman R, Gimeno JR, Sachdev B, Rowland E, Elliott PM, McKenna WJ: **Prospective**

- evaluation of relatives for familial arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia reveals a need to broaden diagnostic criteria.** *J Am Coll Cardiol* 2002, **40**:1445-1450.60.
80. Tandri H, Saranathan M, Rodriguez ER, Martinez C, Bomma C, Nasir K, Rosen B, Lima JA, Calkins H, Bluemke DA: **Noninvasive detection of myocardial fibrosis in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy using delayed-enhancement magnetic resonance imaging.** *J Am Coll Cardiol* 2005, **45**:98-103.
81. Protonotarios N, Tsatsopoulou A: **Naxos disease and Carvajal syndrome: Cardiocutaneous disorders that highlight the pathogenesis and broaden the spectrum of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Cardiovasc Pathol* 2004, **13**:185-194
82. Sen-Chowdhry S, Syrris P, McKenna WJ: **Genetics of right ventricular cardiomyopathy.** *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005, **16**:927-935.
83. Dalal D, James C, Devanagondi R, Tichnell C, Tucker A, Prakasa K, Spevak PJ, Bluemke DA, Abraham T, Russell SD, Calkins H, Judge DP: **Penetrance of mutations in plakophilin-2 among families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy.** *J Am Coll Cardiol* 2006, **48**:1416-1424.
84. Van Tintelen JP, Entius MM, Bhuiyan ZA, Jongbloed R, Wiesfeld AC, Wilde AA, van der Smagt J, Boven LG, Mannens MM, van Langen IM, Hofstra RM, Otterspoor LC, Doevendans PA, Rodriguez LM, van Gelder IC, Hauer RN: **Plakophilin-2 mutations are the major determinant of**

- familial arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy.** *Circulation* 2006, **113**:1650-1658.
- 85.Syrris P, Ward D, Asimaki A, Sen-Chowdhry S, Ebrahim HY, Evans A, Hitomi N, Norman M, Pantazis A, Shaw AL, Elliott PM, McKenna WJ: **Clinical expression of plakophilin-2 mutations in familial arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Circulation* 2006, **113**:356-364.
- 86.Norman M, Simpson M, Mogensen J, Shaw A, Hughes S, Syrris P, Sen-Chowdhry S, Rowland E, Crosby A, McKenna WJ: **Novel mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy.** *Circulation* 2005, **112**:636-642.
- 87.Antoniades L, Tsatsopoulou A, Anastasakis A, Syrris P, Asimaki A, Panagiotakos D, Zambartas C, Stefanadis C, McKenna WJ, Protonotarios N: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by deletions in plakophilin-2 and plakoglobin (Naxos disease) in families from Greece and Cyprus: genotype-phenotype relations, diagnostic features and prognosis.** *Eur Heart J* 2006, **27**:2208-2216.
- 88.Towbin JA, Bowles NE: **The failing heart.** *Nature* 2002, **415**:227-233.
70.
- 89.Norgett EE, Hatsell SJ, Carvajal-Huerta L, Cabezas JC, Common J, Purkis PE, Whittock N, Leigh IM, Stevens HP, Kelsell DP: **Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament**

interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma. *Hum Mol Genet* 2000, **9**:2761-2766.

90.Kaplan SR, Gard JJ, Carvajal-Huerta L, Ruiz-Cabezas JC, Thiene G, Saffitz JE: **Structural and molecular pathology of the heart in Carvajal syndrome.** *Cardiovasc Pathol* 2004, **13**:26-32.

91.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: **Remodeling of myocyte gap junctions in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy due to a deletion in plakoglobin (Naxos disease).** *Heart Rhythm* 2004, **1**:3-11.

92.Priori SG, Napolitano C, Tiso N, Memmi M, Vignati G, Bloise R, Sorrentino V, Danieli GA: **Mutations in the cardiac ryanodine receptor gene (hRyR2) underlie catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia.** *Circulation* 2001, **103**:196-200.

93.Bauce B, Nava A, Rampazzo A, Daliento L, Muriago M, Basso C, Thiene G, Danieli GA: **Familial effort polymorphic ventricular arrhythmias in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy map to chromosome 1q42-43.** *Am J Cardiol* 2000, **85**:573-579.

94.Turrini P, Corrado D, Basso C, Nava A, Bauce B, Thiene G: **Dispersion of ventricular depolarization-repolarization: a non-invasive marker for risk stratification in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Circulation* 2001, **103**:3075-3080.

95. Wichter T, Paul M, Eckardt L, Gerdes P, Kirchhof P, Bocker D, Breithardt G: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Antiarrhythmic drugs, catheter ablation, or ICD?** *Herz* 2005, **30**:91-101.
96. Wichter T, Paul M, Wollman C, Acil T, Gerdes P, Ashraf O, Tjan TD, Soeparwata R, Block M, Borggrefe M, Scheld HH, Breithardt G, Bocker D: **Implantable cardioverter/defibrillator therapy in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: singlecenter experience of long-term follow-up and complications in 60 patients.** *Circulation* 2004, **109**:1503-1508.
97. Corrado D, Thiene G: **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/ dysplasia: clinical impact of molecular genetic studies.** *Circulation* 2006, **113**:1634-1637.
98. Corrado D, Basso C, Rizzoli G, Schiavon M, Thiene G: **Does sports activity enhance the risk of sudden death in adolescents and young adults?** *J Am Coll Cardiol* 2003, **42**:1959-1963.
99. Corrado D, Basso C, Pavei A, Michieli P, Schiavon M, Thiene G: **Trends in sudden cardiovascular death in young competitive athletes after implementation of a preparticipation screening program.** *JAMA* 2006, **296**:1593-1601.
100. Richard P, Isnard R, Carrier L, Duborg O, Donatien Y, Mathieu B, Bonne G, Gary F, Charron P, Hagege M, Komajda M, Schwartz K, Hainque B **Double heterozygosity for mutations in the beta-myosin**

- heavy chain and in the cardiac myosin binding protein C genes in a family with hypertrophic cardiomyopathy** *J Med Genet* 1999; **36**: 542-545
101. Corrado D, Migliore F, Basso C, Thiene G. **Exercise and the risk of sudden death.** *Herz* 2006; 31:533-538.
102. Marcus F, Fontaine G, et al. **Right ventricular dysplasia: a report of 24 adult cases.** *Circulation* 1982, 65:384- 398
103. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB. **Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies.** *Circulation* 2006; 113:1807-1816
104. Marcus F.I., Nava A., Thiene G. **Arrhythmogenic RV Cardiomyopathy/Dysplasia-Recent Advances.** *Edizione Springer* 2007
105. Feigenbaum H, Armstrong WF, Ryan T. **Feigenbaum's echocardiography 2005**, sixth edition
106. Levine RA, Gibson T.C, Aretz T, Gillam LD, Guyer DE, King ME, Weyman AE. **Echocardiographic measurement of right ventricular volume.** *Circulation* 1984 ;3: 497-505
107. Blostrom-Lundqvist C. **Echocardiographic features. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia.** Elsevier Science B.V. 1997 (editors Nava A, Rossi L, Thiene G)

108. Yoerger DM, Marcus F, Sherrill D, Calkins H, Towbin JA, Zareba W, Picard MH: **Echocardiographic findings in patients meeting task force criteria for arrhythmogenic right ventricular dysplasia: New insight from the multidisciplinary study of right ventricular dysplasia.** *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 860-865.
109. Lindström L, Wilkenshoff UM, Larsson H, Wranne B. **Echocardiographic assessment of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Heart* 2001; 86: 31-38.
110. Foale R, Nihouyannopoulos P, McKenna W, Klienebenne A, Nadazdin A, Rowland E, Smith G. **Echocardiographic measurement of the normal adult right ventricle.** *Br Heart J* 1986; 56: 33-4
111. Asimaki A, Syrris P, Wichter T, Matthias Pk Saffitz JE, McKenna WJ. **A novel dominant mutation in plakoglobin causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.** *Am J Hum Genet* 2007; 81: 964-73
112. Stokes DL, Wagenknecht T, **Calcium transport across the sarcoplasmic reticulum: Structure and function of Ca²⁺-ATPase and ryanodine receptor.** *Eur J Biochem* 2000; 267:5274-5279
113. Sen-Chowdhry, S Syrris P, McKenna WJ. **Genetics of Right ventricular cardiomyopathy.** *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005; 16: 927-935.

114. Kowalczyk AP, Bornslaeger EA, Borgwardt JE, Palka HL, Dhaliwal AS, Corcoran CM, Denning MF, Green KJ. **The aminoterminal domain of desmoplakin binds to plakoglobin and clusters desmosomal cadherin-plakoglobin complexes.** *The Journal of cell Biology* 1997; 139: 773-78
115. Leung CL, Green KJ, Liem R.K.H.. **Plakins: a family o versatile cytolinker proteins.** *TRENDS in Cell Biology* 2002;12:37-45
116. Wichter T, Hindricks G, Ierch H, Bartenstein P, Borggreffe M et al **Regional myocardial sympathetic dysinnervation in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. An analysis using 123I-meta-iodobenzylguanidine scintigraphy.**
117. Palka HL, Green KJ. **Roles of plakoglobin end domains in desmosome assembly.** *Journal of cell science* 1997;110:2359-2371
118. Nava A, Thiene G, Calciani B, Martini B, Daliento L, Buja GF, Fasoli G. **Clinical profile of concealed form of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy presenting with apparently idiopathic ventricular arrhythmias.** *Int J Cardiol* 1992; 35: 195-206
119. Severini GM, Krajcinovic M, Pinamonti B et al **A new locus for arrhythmogenic right ventricular dysplasia on the long arm of chromosome 14.** *Genomics* 1996 31: 193- 200

120. Rampazzo A, Nava A, Miorin M et al. **ARVD4 A new locus for arrhythmogenic right ventricular dysplasia, maps to chromosome 2 long arm.** *Genomics* 1997 259- 263
121. Ahmad F, Li D, Karibe A et al **Localization of a gene responsible for locus for arrhythmogenic right ventricular dysplasia to chromosome 3p23.** *Circulation* 1998 98:2791- 2795
122. Li D, Ahmad F, Gardner MJ et al **The locus of a novel gene responsible for arrhythmogenic right ventricular dysplasia characterized by early onset and high penetrance maps to chromosome 10p12- 14.** *Am J Hum Gent* 2000 66: 148- 156