



*UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA*  
*Corso di Laurea Magistrale a Ciclo Unico*  
*in Medicina e Chirurgia*

Dipartimento di Scienze Cardio-Toraco-Vascolari e  
Sanità pubblica

*Direttore: Ch.mo Prof. Federico Rea*

Unità Operativa Complessa di Patologia Cardiovascolare

*Direttore: Ch.ma Prof.ssa Cristina Basso*

TESI DI LAUREA

**La biopsia endomiocardica del ventricolo sinistro:  
ruolo nel percorso diagnostico delle cardiomiopatie**

Relatrice:

Ch.ma Prof.ssa Cristina Basso

Correlatrice:

Dr.ssa Monica De Gaspari

Laureando: Filippo Valle

Matricola: 1177305

Anno accademico: 2022-2023



## Indice

|  |           |
|--|-----------|
| <b>RIASSUNTO .....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>CAPITOLO 1 – INTRODUZIONE .....</b>   | <b>5</b>  |
| <b>1.1 UNA STORIA DELLA BIOPSIA ENDOMICARDICA .....</b>                                    | <b>5</b>  |
| <b>1.2 INDICAZIONI E UTILIZZI, REVISIONE DELLA LETTERATURA .....</b>                       | <b>6</b>  |
| 1.2.1 <i>Sospetto clinico di miocardite</i> .....  | 7         |
| 1.2.2 <i>Cardiomiopatia dilatativa</i> .....   | 13        |
| 1.2.3 <i>Cardiotossicità da terapia antineoplastica</i> .....                              | 14        |
| 1.2.4 <i>Aritmie ventricolari maligne di nnd, disturbi di conduzione e sincope</i> . ..... | 15        |
| 1.2.5 <i>Malattie autoimmuni</i> .....   | 16        |
| 1.2.6 <i>Cardiomiopatia restrittiva e ipertrofica</i> .....                                | 16        |
| 1.2.7 <i>Tumori cardiaci</i> .....   | 17        |
| 1.2.8 <i>Monitoraggio del rigetto nel trapianto di cuore</i> .....                         | 17        |
| <b>1.3 TECNICA OPERATORIA .....</b>  | <b>19</b> |
| 1.3.1 <i>Preparazione</i> .....  | 19        |
| 1.3.2 <i>Controindicazioni</i> .....   | 21        |
| 1.3.3 <i>Complicanze</i> .....   | 22        |
| 1.3.4 <i>Tecnica per l'accesso destro</i> .....  | 23        |
| 1.3.5 <i>Tecnica per l'accesso sinistro</i> .....  | 23        |
| 1.3.6 <i>Guidare la biopsia</i> .....  | 24        |
| 1.3.7 <i>Monitoraggio post-procedurale</i> .....   | 25        |
| 1.3.8 <i>Limitazioni della BEM</i> .....   | 25        |
| <b>1.4 BIOPSIE SINISTRA E DESTRA A CONFRONTO .....</b>                                     | <b>25</b> |
| <b>1.5 PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER L'ANALISI ISTOLOGICA .....</b>                        | <b>26</b> |
| 1.5.1 <i>Microscopia Ottica</i> .....  | 27        |
| 1.5.2 <i>Analisi ultrastrutturale</i> .....  | 27        |
| <b>1.6 ANATOMIA PATOLOGICA MICROSCOPICA DELLE MIOCARDIOPATIE .....</b>                     | <b>27</b> |
| 1.6.1 <i>Cardiomiopatia dilatativa</i> .....   | 28        |
| 1.6.2 <i>Distrofinopatie</i> .....   | 28        |
| 1.6.3 <i>Cardiomiopatie mitocondriali</i> .....  | 28        |
| 1.6.4 <i>Cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro</i> .....                         | 29        |
| 1.6.5 <i>Cardiomiopatia ipertrofica</i> .....  | 29        |
| 1.6.6 <i>Endocardite parietale di Loeffler</i> .....                                       | 30        |
| 1.6.7 <i>Sarcoidosi cardiaca</i> .....   | 30        |
| 1.6.8 <i>Amiloidosi cardiaca</i> .....   | 30        |

|  |   |           |
|--|---|-----------|
| 1.6.9  | <i>Cardiomiopatia da accumulo di ferro</i> .....  | 31        |
| 1.6.10                                       | <i>Desminopatie</i> .....   | 31        |
| 1.6.11                                       | <i>Malattia di Anderson – Fabry</i> .....   | 31        |
| 1.6.12                                       | <i>Tumori cardiaci</i> .....  | 32        |
| 1.7  | REVISIONE DELLA LETTERATURA.....  | 32        |
| 1.8  | SCOPO DELLO STUDIO.....   | 35        |
| <b>CAPITOLO 2 - MATERIALI E METODI</b> ..... |   | <b>36</b> |
| 2.1.   | POPOLAZIONE DI STUDIO.....  | 36        |
| 2.2.   | ANALISI DEI CAMPIONI.....   | 37        |
| 2.3.   | ANALISI STATISTICA .....  | 37        |
| <b>CAPITOLO 3 – RISULTATI</b> .....          |   | <b>38</b> |
| 3.1  | RISULTATI .....   | 38        |
| 3.2  | DIAGNOSI E ALTERAZIONI ISTOLOGICHE .....  | 41        |
| 3.3  | CORRELAZIONI SIGNIFICATIVE TRA ALTERAZIONI ISTOLOGICHE E DATI CLINICI.....                      | 46        |
| 3.4  | ANALISI DI QUATTRO SOTTOPOPOLAZIONI PARTICOLARI .....   | 63        |
| 3.4.1  | <i>Pazienti con miocardite istologicamente accertata</i> .....                                  | 63        |
| 3.4.2  | <i>Pazienti con prolasso valvolare mitralico</i> .....  | 64        |
| 3.4.3  | <i>Pazienti con sospetta cardiomiopatia aritmogena</i> .....                                    | 65        |
| 3.4.4  | <i>Sottopopolazione di pazienti con sospetta cardiomiopatia dilatativa</i> ..                   | 66        |
| <b>CAPITOLO 4 – DISCUSSIONE</b> .....        |   | <b>68</b> |
| 4.1  | VALUTAZIONI GENERALI E CORRELAZIONE TRA DIAGNOSI CLINICA E ALTERAZIONI ANATOMO-PATOLOGICHE..... | 68        |
| 4.2  | CORRELAZIONI TRA PRESENZA DI ALTERAZIONI ISTOLOGICHE E CLINICA .....                            | 69        |
| 4.3  | ANALISI DI QUATTRO CASE STUDY .....   | 71        |
| 4.3.1  | <i>La miocardite eosinofila</i> .....   | 72        |
| 4.3.2  | <i>Il prolasso valvolare mitralico aritmico</i> .....   | 74        |
| 4.3.3  | <i>Un caso di MINOCA</i> .....  | 76        |
| 4.3.4  | <i>La BEM nella cardiomiopatia aritmogena</i> .....   | 78        |
| 4.4  | LIMITAZIONI DELLO STUDIO.....   | 80        |
| <b>CAPITOLO 5 – CONCLUSIONI</b> .....        |   | <b>81</b> |
| 5.1  | CONCLUSIONI .....   | 81        |
| <b>BIBLIOGRAFIA</b> .....                    |   | <b>82</b> |
| <b>ADDENDUM: TABELLE E STATISTICA</b> .....  |   | <b>I</b>  |

|  |          |
|--|----------|
| <b>LISTA DELLE ABBREVAZIONI .....</b>                | <b>I</b> |
| <b>TABELLE E GRAFICI DI ANALISI STATISTICA .....</b> | <b>I</b> |





## Riassunto

**Background:** La biopsia endomiocardica (BEM) è una tecnica diagnostica invasiva utilizzata per la diagnosi di numerose patologie cardiache. Si può eseguire sia a livello del ventricolo destro (VD) che sinistro (VS). L'utilizzo della BEM del VS è meno comune rispetto a quella del VD ma potrebbe fornire informazioni diverse dal punto di vista diagnostico ed aiutare il clinico nelle scelte terapeutiche.

**Scopo:** Valutare l'utilità della BEM del VS e biventricolare (BIV) e le correlazioni tra la diagnosi clinica e le alterazioni microscopiche in pazienti provenienti dai centri cardiologici di riferimento di Ancona e Monzino.

**Materiali e metodi:** valutazione di pazienti sottoposti a BEM del VS e a mappaggio elettroanatomico (electroanatomic voltage mapping EVM) o risonanza magnetica nucleare (CMR) appartenenti a varie categorie diagnostiche cliniche: miocardite, cicatrice sinistra isolata, cardiomiopatia aritmogena-ACM, cardiomiopatia ipertrofica e cardiomiopatia dilatativa-DCM. Di ciascun paziente sono stati raccolti i dati clinici e istologici, rivalutando ciascuna delle BEM al microscopio ottico. I dati sono stati poi analizzati con un software statistico e valutate le correlazioni tra clinica e istologia.

**Risultati:** in un totale di 116 pazienti che rispondevano ai criteri di inclusione, 2 (1,7%) non presentavano alcun tipo di alterazioni, mentre 15 (12,9%) presentavano solo alterazioni di non chiaro significato. Tutti i pazienti con miocardite confermata istologicamente (3,4%) avevano anche un sospetto clinico di miocardite. Nei pazienti con diagnosi clinica di ACM o DCM erano mediamente presenti un maggior numero di alterazioni istologiche (presenza di fibrosi, alterazioni cardiomiopatiche e vacuolizzazioni) rispetto ai pazienti con miocardite e cicatrice sinistra isolata (fibrosi p value=0,05; alterazioni cardiomiopatiche p value=0,1; vacuolizzazioni p value=0,26). La presenza di fibrosi correla significativamente con la presenza di alterazioni della ripolarizzazione (odds ratio 3,26) e con la dilatazione del VS (odds ratio 3,10). La fibroadiposi correla significativamente con episodi di ta-



chicardia o fibrillazione ventricolare (TV o FV) (odds ratio 5,77). La presenza di alterazioni cardiomiopatiche correla con la riduzione della FE (odds ratio 3,71), con la dilatazione del VS (odds ratio 2,76), con episodi di TV o FV (odds ratio 2,66) e con la presenza di EVM positivo (odds ratio 2,56). La presenza di vacuolizzazioni si correla significativamente con la riduzione della FE (odds ratio 3,59), con la dilatazione del VS (odds ratio 2,32) e con episodi di TV o FV (odds ratio 2,65). L'ispessimento endocardico correla significativamente con la presenza di battiti extrasistolici ventricolari (BEV) all'Holter (odds ratio 2,95), con EVM positivo (odds ratio 5,94). La presenza o assenza di fibrosi non correla con la presenza assoluta di LGE positivo o EVM positivo. Nei pazienti che presentano fibrosi la percentuale di quest'ultima è maggiore nei casi di LGE subendocardico e transmurale e nel caso di un EVM unipolare positivo. Dall'analisi dei pazienti con sospetta DCM e ACM risulta che i pazienti con sospetta DCM hanno dei diametri dei cardiomiociti significativamente maggiori (22,9  $\mu\text{m}$ ) rispetto agli altri pazienti dello studio (20,3 micron) ( $p=0,008$ ).

**Conclusioni:** Per alcune patologie la BEM rimane utile per confermare il dato clinico. Il valore clinico e fisiopatologico delle correlazioni individuate deve essere indagato da ulteriori studi, in particolare a riguardo dell'impatto dell'ispessimento endocardico e delle alterazioni cardiomiopatiche. La mancata correlazione tra fibrosi e la presenza di LGE permette di supporre che la BEM del VS guidata da CMR o EVM non porti ad un aumento del potere diagnostico per la rara presenza di transmuralità. Nell'esperienza del nostro studio la BEM del VS molto spesso non è specifica per categorie cliniche prestabilite ma aiuta a migliorare l'inquadramento diagnostico del paziente.

## Abstract

**Background:** endomyocardial biopsy (EMB) is an invasive diagnostic technique used to diagnose heart muscle diseases. It can be performed both on the right (RV) and left ventricle (LV). LV-EMB is less common than RV-EMB but can give different information on the diagnosis and help the clinician in the therapy definition.

**Scope:** to evaluate the usefulness of LV EMB and biventricular (BIV) EMB and the correlations between the clinical features and the histologic alterations in patients from the cardiological centres of Ancona and Monzino.

**Materials e methods:** to evaluate patients belonging to 5 different clinical diagnostic categories who underwent either electroanatomic voltage mapping (EVM) or cardiac magnetic resonance (CMR) (myocarditis, LV isolated scar, arrhythmic cardiomyopathy - ACM and dilated cardiomyopathy - DCM) who underwent LV EMB. Of each patient, a set of clinical data and histological features were collected and analysed to research for clinical and pathological correlations.

**Results:** Among the 116 biopsies, 2 (1.7%) did not present any alteration and 15 (12.9%) presented only alterations of unclear significance. All patients with histologically confirmed myocarditis (3.4%) had a clinical suspicion of myocarditis. In patients with a diagnosis of ACM or DCM, histological changes were higher (fibrosis, cardiomyopathic alterations and vacuolisations), than in patients with a diagnosis of myocarditis or LV isolated scar (for fibrosis p value=0,05; for cardiomyopathic alterations p value=0,1; for vacuolisations p value=0,26). The presence of fibrosis correlated significantly with repolarisation changes (odds ratio 3.26) and LV dilation (odds ratio 3.10). The presence of fibrofatty substitution correlated significantly with episodes of VT or VF (odds ratio 5,77). The presence of cardiomyopathic changes correlated significantly with ejection reduction (EF) reduction (odds ratio 3.71), LV dilation (odds ratio 2.76), episodes of ventricular tachycardia (VT) or fibrillation (VF) (odds ratio 2.66) and positive EVM (odds ratio 2.56). The presence of vacuolisations correlated significantly with EF reduction (odds ratio 3.59), LV dilation (odds ratio 2.32) and episodes of VT or VF (odds ratio 2.65). Endocardial fibrous thickening correlated significantly with premature ventricular

beats (PVB) at ECG Holter analysis (odds ratio 2.95) and with a positive EVM (5.94). There is no correlation between the histological presence of fibrosis and a positive EVM or LGE on LV EMB. When evaluating patients with fibrosis, the percentage of fibrosis is higher in those with a positive subendocardial or transmural LGE and in those with a positive unipolar EVM. By analysing patients with a diagnosis of ACM or DCM, the cardiomyocytes mean diameter in patients with DCM was significantly higher (22.9  $\mu\text{m}$ ) than in patients belonging to other clinical categories (20.3  $\mu\text{m}$ ) ( $p=0,008$ )

**Conclusions:** LV EMB can be useful to confirm the clinical diagnosis. Clinic-pathologic correlations must be further investigated, especially regarding the impact of endocardial thickening and the presence of cardiomyopathic changes. The absence of correlation between fibrosis and EVM and LGE might suggest that guided EMB does not increase the diagnostic yield of the procedure due to the uncommon presence of transmural LGE. According to our data, LV-EMB is usually not specific for clinical categories but might help in the diagnostic work up.

## Capitolo 1 – Introduzione

### 1.1 Una storia della biopsia endomiocardica

La biopsia endomiocardica (BEM) è l'esame microscopico del tessuto endocardico e miocardico ventricolare e si può eseguire sia a livello destro che sinistro. Nel 1958 a Chicago, al Cook County hospital, Milton Weinberg pubblica un articolo in cui descrive la tecnica chirurgica open per effettuare una biopsia di pericardio e miocardio in minitoracotomia, per indagare una sospetta miocardite o pericardite(1). Sutton e Kent sviluppano la tecnica utilizzando un agobiopsia, sempre con accesso toracotomico(2). La tecnica diagnostica attuale con accesso intravascolare nasce nel 1962 grazie a Konno e Sakakibara (3,4). Caves e Schultz, modificando lo strumento originale, svilupparono l'accesso attraverso la vena giugulare interna destra in anestesia locale(5). Più o meno nello stesso periodo al King's College da Richardson venne elaborata una tecnica con catetere guida più lungo che permetteva accessi anche dalle vene femorali con un aumentato grado di sicurezza(6). La sicurezza dell'approccio sinistro è stata anch'essa successivamente provata(7). Tradizionalmente l'approccio prevede l'accesso transvenoso o transarterioso (normalmente con tecnica di Seldinger (8)) e l'introduzione di cateteri e strumenti per l'esecuzione della BEM sotto guida fluoroscopica fino alla parete ventricolare e l'estrazione di multipli campioni di tessuto (9). Nella BEM sinistra l'approccio più comune è quello

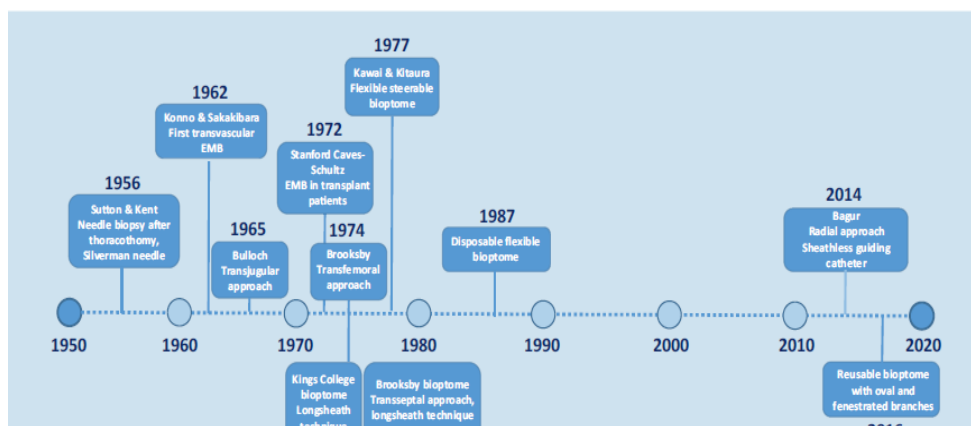


Figura 1: timeline dello sviluppo della BEM, adattato da Seferovic et al. 2021.

transfemorale, ma alcuni autori propongono anche un approccio transradiale. Non sembrano esserci particolari differenze di esito o complicanze nei due metodi(10). In Figura 1 è riportata una timeline delle più importanti *milestone* relative allo sviluppo e scoperta della BEM (11).

## 1.2 Indicazioni e utilizzi, revisione della letteratura

La BEM è una procedura invasiva, che presenta numerosi rischi e complicanze ed è disponibile solo in alcuni centri di riferimento (in Veneto, ad esempio, solo negli ospedali di Padova, Vicenza, Verona, Mestre e Treviso). La BEM va quindi riservata ai soli casi clinici in cui è impossibile o imprecisa la diagnosi con altri metodi diagnostici meno invasivi. Il valore diagnostico, inoltre, dipende anche dall'estensione della malattia miocardica (lesioni focali hanno minore sensibilità) e dalle capacità del centro di interpretare il campione. Le indicazioni principali all'esecuzione di una BEM sono quindi molte ma sono strettamente legate al quadro clinico(11). In particolare, nelle indicazioni dell'American Heart Association, dell'American College of Cardiology e della European Society of Cardiology (12), viene assegnata una classe di raccomandazione (I, IIa, IIb e III) e di evidenza (A, B, C, tra parentesi) alle varie indicazioni alla BEM.

La classe di raccomandazione I è riservata ai casi di:

- scompenso cardiaco di durata minore di due settimane associato con compromissione emodinamica (B);
- scompenso di nuova insorgenza con presenza di eventi aritmici maligni, dilatazione, di durata da 2 settimane a 3 mesi, che non rispondono alla terapia entro 1 o 2 settimane (B).

La classe di raccomandazione IIa è riservata ai casi di:

- scompenso cardiaco di durata maggiore a tre mesi con dilatazione sinistra ed eventi aritmici maligni che non risponda alla terapia entro 1 o 2 settimane (C);
- scompenso cardiaco con cardiomiopatia dilatativa associato a sospetti eventi di natura allergica o eosinofilia(C);
- scompenso cardiaco associato a cardiomiopatia da antracicline(C);

- scompenso cardiaco associato a cardiomiopia restrittiva non nota(C);
- sospetto di tumore cardiaco(C);
- cardiomiopia di incerta origine in bambini(C).

La classe di raccomandazione IIb è riservata ai casi di:

- scompenso cardiaco di nuovo riscontro di durata tra 2 settimane e 3 mesi con dilatazione sinistra senza episodi aritmici maligni che non risponda alla terapia entro 1 o 2 settimane (B);
- scompenso cardiaco di durata maggiore di 3 mesi con dilatazione sinistra senza episodi aritmici maligni che non risponda alla terapia entro 1 o 2 settimane (C);
- scompenso cardiaco con cardiomiopia ipertrofica di incerta origine (C);
- sospetto di cardiomiopia aritmogena (C);
- aritmie maligne di incerta origine (C).

La classe di raccomandazione III è riservata ai casi di:

- fibrillazione atriale non altrimenti spiegata (C). (12)

La BEM rimane il gold standard (13) nella diagnosi di:

- rigetto post-trapianto cardiaco;
- miocardite;
- disturbi da accumulo;
- malattie infiltrative del miocardio.

### **1.2.1 Sospetto clinico di miocardite**

La BEM è indicata come esame di secondo livello nei pazienti con miocardite acuta o fulminante che si presenti con shock cardiogeno o disfunzione ventricolare sinistra, con o senza eventi aritmici maligni e/o anomalie di conduzione (14). Sono conosciute tre forme di miocardite, infettiva, autoimmune e idiopatica. Gli istotipi più comuni di miocardite includono la linfocitica, eosinofila, a cellule giganti e

granulomatosa (sarcoidosi). La patogenesi è varia, prevalentemente infettiva, virale e postvirale (15), meno frequentemente batterica, fungina o protozoica (16). Sono presenti anche forme da tossicità da farmaci e miocarditi da infiammazioni sistemiche(14). I virus più coinvolti sono cardiotropici come coxsackie A e B, echovirus, vasculotropici come il Parvovirus B19, linfotropici della famiglia degli Herpesvirus (HHV-6), EBV, CMV e virus che stimolano indirettamente una risposta immunitaria asimmetrica come i virus influenzali (A e B), HIV, HCV e della famiglia dei coronavirus (MERS-CoV e SARS-CoV e SARS-CoV2) (16). Inoltre, è frequente anche nei casi di malattie sistemiche del tessuto connettivo come SLE, artrite reumatoide, dermatopolimiosite, sclerodermia, spondilite anchilosante. In questi casi la BEM può essere utile per distinguere la miocardite da SLE agli effetti cardiotossici dei farmaci. L'istopatologia cardiaca di queste malattie può avere varie forme in base alla fase della malattia anche se solitamente comprende un quadro di infiammazione miocardica e/o vasculite(17). Il potere diagnostico della BEM è massimo quando è effettuata entro 2 settimane dell'insorgenza dei sintomi.(18)

I criteri su cui si basa la diagnosi precoce e definitiva di miocardite sono i criteri di Dallas(19). In questi criteri viene innanzitutto definita la miocardite idiopatica come un: "infiltrato infiammatorio del miocardio con necrosi e/o degenerazione dei miociti adiacenti non tipici del danno ischemico associato a malattia coronarica". La classificazione prevede anche l'esecuzione di una prima biopsia e una successiva che comprendono:

- Prima biopsia:
  - Miocardite con o senza fibrosi;
  - Miocardite borderline (può essere indicato ripetere la biopsia);
  - Nessuna miocardite.
- Biopsia successiva:
  - Miocardite persistente con o senza fibrosi;
  - Miocardite in risoluzione con o senza fibrosi;
  - Miocardite risolta con o senza fibrosi.

Nei criteri di Dallas l'infiltrato e la fibrosi vengono anche ulteriormente classificati in base a varie caratteristiche.

- L'infiltrato può essere:
  - In base alla distribuzione:
    - Focale;
    - Confluente;
    - Diffuso.
  - In base all'estensione in:
    - Lieve;
    - Moderata;
    - Severa.
  - In base al tipo in:
    - Linfocitico;
    - Eosinofilico;
    - Granulomatoso;
    - A cellule giganti;
    - Neutrofilico;
    - Misto.
- La fibrosi può essere:
  - In base alla distribuzione:
    - Endocardica;
    - Interstiziale.
  - In base all'estensione in:
    - Lieve;
    - Moderata;
    - Severa.
  - In base al tipo in:
    - Perivascolare;
    - Da sostituzione.



Nel 1999 un comitato di esperti della World Heart Federation in una riunione a Marburgo ha ridefinito più precisamente questi parametri. In particolare, distingue la miocardite in acuta (attiva nei criteri di Dallas) con necessaria necrosi miocardica e/o degenerazione dei miociti adiacenti, cronica (borderline e in guarigione per Dallas) in cui la necrosi non è obbligatoria per definizione. L'infiltrato infiammatorio viene classificato come la classificazione di Dallas, la distribuzione in focale, confluyente o diffusa. La definizione di miocardite del panel prevede:

- Minimo 14 leucociti infiltranti/mm<sup>2</sup>, preferibilmente linfociti T (CD45+) o T attivati (fino a 4 macrofagi possono essere inclusi nel totale della conta);
- Il numero totale è maggiore di 2 deviazioni standard il numero di leucociti nel tessuto di controllo (2-4);
- In caso di foci di leucociti (>3 preferibilmente cellule T) localizzati fuori il lume vascolare un processo infiammatorio locale può essere diagnosticato anche senza il numero critico di 14 leucociti.
- Se leucociti, diffusi o focali, sono presenti in aree fibrotiche il processo può essere denominato riparativo.

La distribuzione e la quantità di fibrosi vengono descritte similmente in:

- Nessuna (grado 0);
- Lieve (grado 1);
- Moderata (grado 2);
- Severa (grado 3).

La localizzazione o formazione della fibrosi va definita come:

- Endocardica;
- Di sostituzione;
- Interstiziale.

La terminologia viene quindi modificata nella seguente:

- Prima biopsia:

1. Acuta o attiva: un infiltrato ben delimitato di  $> 14$  leucociti/ $\text{mm}^2$ , di cui linfociti T  $>7/\text{mm}^2$ , che dovrebbe essere quantificato attraverso le metodiche immunoistochimiche. Sono necessarie necrosi o degenerazione, la fibrosi può invece essere assente o presente e va conseguentemente descritta;
  2. Miocardite cronica: un infiltrato ben delimitato di  $> 14$  leucociti/ $\text{mm}^2$ , di cui linfociti T  $>7/\text{mm}^2$ , che dovrebbe essere quantificato attraverso le metodiche immunoistochimiche. Necrosi o degenerazione non sono normalmente visibili, la fibrosi può invece essere assente o presente e va conseguentemente descritta;
  3. Nessuna miocardite: non cellule infiltranti o  $<14$  leucociti/ $\text{mm}^2$ , o non linfociti T  $>7/\text{mm}^2$ .
- Biopsie successive:
    4. Miocardite persistente: criteri come in 1 o 2 (caratteristiche di miocardite acuta o cronica);
    5. Miocardite in risoluzione (in guarigione): criteri come in 1 o 2 ma il processo immunitario è ridotto rispetto alla prima biopsia;
    6. Miocardite risolta (guarita): corrispondente alla classificazione di Dallas.(20)

La miocardite a cellule giganti si può presentare come scompenso cardiaco cronico o acuto, in questo secondo caso può essere diagnosticata attraverso una BEM (21). La BEM mostra solitamente severo infiltrato infiammatorio polimorfo con cellule giganti multinucleate, associato a diffuso danno miocitico.

La miocardite inoltre si trova in circa il 10% dei casi di cardiomiopatia dilatativa, per questo può essere che la stessa ne sia implicata nella patogenesi(22).

La BEM è un importante strumento diagnostico che non può essere rimpiazzato da strumenti di imaging per una diagnosi definitiva, è anche indicato prendere

multipli campioni e in uno stadio precoce di malattia(13). Attraverso la BEM nei casi di miocardite si può ottenere:

- Una diagnosi definitiva;
- Identificare la probabile causa;
- Monitorare lo sviluppo di una cardiomiopatia;
- Confermare il coinvolgimento cardiaco nel contesto di una malattia autoimmune sistemica;
- Quantificazione e qualificazione del danno ai miocardiociti;
- Quantificazione e qualificazione della fibrosi.

Nel caso si voglia indagare l'eziologia è anche fondamentale la diagnosi sierologica e microbiologica, con eventuale ulteriore indagine immunoistochimica. Per aumentare la sensibilità diagnostica dell'indagine immunoistochimica è importante un ampio pannello di anticorpi monoclonali e policlonali (anti-CD3, linfociti T, anti-CD68, macrofagi, anti HLA-DR). In particolare il riscontro di up-regolazione di HLA-DR è un marker di miocardite autoimmune dove può essere considerata l'immunosoppressione(14,20). Va anche ricordato che la miocardite può anche essere esclusivamente sinistra o destra, per cui la BEM va calibrata in base al quadro clinico. Il valore diagnostico della BEM è aumentato dalle analisi molecolari con estrazione di DNA-RNA e RT-PCR(23). Va ricordato che presenza del genoma virale in assenza della documentazione istologica di cellule infiammatorie non è diagnostica di miocardite(18). La pandemia da COVID-19 e la successiva campagna vaccinale hanno portato un rinnovato interesse (anche mediatico) per gli effetti sul miocardio dei virus che causano normalmente sintomatologia simil-influenzale. Già a maggio 2020 in uno studio italiano è stato descritto il primo caso di malattia cardiaca acuta con conseguente shock cardiogeno causata dal virus SARS-CoV-2. La BEM mostrava infiammazione endocardica e interstiziale di basso grado, macrofagi CD68+ all'immunoistochimica e all'analisi ultrastrutturale singole particelle virali o gruppi di particelle con morfologia e dimensioni compatibili con il virus

SARS-CoV-2(24). A ottobre 2020 uno studio multicentrico ha analizzato le caratteristiche patologiche del coinvolgimento miocardico della patologia utilizzando campioni prelevati da 21 autopsie e analizzati da patologi cardiovascolari esperti. Una miocardite linfocitica era presente nel 14% dei casi, in due dei quali erano predominanti linfociti T CD4+ e negli altri linfociti T CD8+. Un aumento dell'infiltrato macrofagico interstiziale era rilevabile nell'86% dei casi. 4 casi presentavano una lieve pericardite e 4 presentavano lesioni miocardiche acute del ventricolo destro, probabilmente dovute a sovraccarico(25).

### **1.2.2 Cardiomiopatia dilatativa**

L'indicazione alla BEM nella cardiomiopatia dilatativa è riservata a quei casi già indicati sopra in cui lo scompenso sia con moderata-severa dilatazione sinistra, refrattari al trattamento, con insorgenza recente della sindrome clinica, nel caso in cui non siano note le cause scatenanti la dilatazione e anamnesi familiare e test genetici siano muti e il rimodellamento sinistro non sia severo.(11,12) In questo setting la BEM con indagine immunoistochimica ha maggiore sensibilità della CMR.(26) La BEM ha anche un ruolo nello spiegare il coinvolgimento della *Borrelia burgdorferi* nei casi di cardiomiopatia dilatativa non spiegata nelle regioni endemiche per la malattia di Lyme. La correlazione tra infezione e malattia miocardica è stata già individuata negli anni 90(27,28) ma solo successivamente indagata più a fondo. In particolare lo studio che maggiormente ha indagato l'efficacia della BEM ha utilizzato l'RT-PCR per identificare il genoma di *Borrelia burgdorferi sensu lato* evidenziando l'importanza di analisi di secondo livello sul tessuto biotico.(29) In uno studio tedesco del 2015 pubblicato su Herz su 110 biopsie effettuate in pazienti con cardiomiopatia non spiegata di recente onset 22 di questi presentavano il genoma della *Borrelia burgdorferi* (20%). I pazienti positivi al genoma venivano trattati ulteriormente con terapia antibiotica a base di ceftriaxone. Al follow-up dopo 1 anno si notava un miglioramento sia della funzione ventricolare che una diminuzione dei diametri telediastolico e telesistolico nonché nella sintomatologia dello scompenso.(30) Questi ed altri studi sottolineano l'importanza della BEM

non solo dal punto di vista diagnostico ma anche per impostare una più corretta terapia.

### **1.2.3 Cardiotossicità da terapia antineoplastica**

La BEM è uno strumento fondamentale per determinare la presenza e il grado di danno miocardico determinato dalla terapia antineoplastica. La radioterapia può causare danno miocardico di varia entità e tipo: pericardico, malattia coronarica, malattia valvolare, cardiomiopatia, anomalie del sistema di conduzione, disturbi autonomici e vasculopatia periferica. Gli effetti delle radiazioni si sviluppano dopo molti anni ed è quindi importante un follow-up prolungato con screening regolari, che non comprendono normalmente la BEM.(31) Nel caso di terapia con Trastuzumab (anticorpo monoclonale anti-HER2) utilizzato nella terapia di pazienti con cancro alla mammella HER2 positivo uno degli effetti collaterali più frequenti è la disfunzione cardiaca. La tossicità non è dose-dipendente, non si associa a necrosi cardiomiocitica, normalmente si rileva durante la terapia ed è normalmente reversibile dopo interruzione della terapia. La sorveglianza raccomandata include ecocardiografia, imaging nucleare, CMR prima dell'inizio e periodicamente durante la terapia. Non è previsto l'uso della BEM come esame diagnostico.(32) Nel caso degli inibitori delle tirosin- e serin-chinasi (*imatinib, dasatinib, regorafenib, erlotinib, gefitinib, vemurafenib, ruxolitinib, ibrutinib, etc...*) sono terapie antineoplastiche utilizzate per trattare (o meglio cronicizzare) malattie come la leucemia mieloide, il melanoma, il carcinoma epatocellulare e a cellule renali, il NSCLC, la policitemia vera, il linfoma follicolare etc... Sono frequenti le complicanze cardiovascolari, con diversi profili di tossicità in base allo specifico agente. Sono particolarmente frequenti l'ipertensione arteriosa, lo scompenso cardiaco, l'allungamento del QT e l'ipertensione polmonare. Il controllo delle complicanze cardiovascolari si esplica nei controlli di base iniziali e in un approfondimento ulteriore in caso di sintomatologia suggestiva.(33) BEM di pazienti con scompenso cardiaco durante terapia con inibitori delle tirosin-chinasi hanno dimostrato segni di danno miocitario mediato da tossina con disfunzione alle membrane e ai mitocondri.(34,35) Nel caso di significative complicanze cardiovascolari la valutazione sulla

continuazione della terapia va svolta in team multidisciplinare. (33) La cardiotossicità da antracicline è molto importante perché può compromettere l'efficacia del trattamento, compromettendo sia la qualità della vita che la sopravvivenza dei pazienti, indipendentemente dalla prognosi oncologica, con riduzione della frazione di eiezione ventricolare che può portare a scompenso progressivo(36). Il danno miocardio da antracicline mostra caratteristiche morfologiche specifiche con lesioni miocardiche focali e assenza di infiltrato infiammatorio.(37) La strategia migliore per minimizzare la tossicità da antracicline è riconoscere il più presto possibile il danno e dare un'adeguata terapia profilattica. Attualmente la tossicità da antracicline può essere diagnosticata anche in fase preclinica attraverso immagini doppler e di deformazione e utilizzo di ACE-i. Nel caso la disfunzione sia già avvenuta se la diagnosi è precoce e la terapia per lo scompenso sia ottimizzata si può avere un recupero parziale o totale. (38) La BEM non è raccomandata di routine in tutti i pazienti con tossicità da antracicline se è nota l'associazione causale e si può considerare per quei casi di scompenso in cui non sia nota la causa.(11) Riguardo la tossicità da ciclofosfamide il ruolo della BEM è meno studiato(39). Nel caso degli inibitori del checkpoint immunitario (ICI) come ipilimumab, pembrolizumab e altri, la tossicità cardiovascolare si sviluppa fino al 5% dei casi, portando a miocardite, disfunzione del ventricolo sinistro senza segni di infiammazione, infarto del miocardio e aritmie(40). La BEM è indicata se il sospetto di cardiotossicità mediata da ICI non è confermato o rimangono incertezze dopo l'imaging con CMR o PET-TC con <sup>18</sup>F-fluorodesossiglucosio e se il paziente non può essere sottoposto a queste indagini di imaging perché instabile dal punto di vista cardiovascolare.(41)

#### **1.2.4 Aritmie ventricolari maligne di nnd, disturbi di conduzione e sincope.**

Nel caso di sincopi e aritmie ventricolari maligne la BEM può avere un ruolo in particolare in quei casi in cui non sia chiaramente identificabile la causa, in cui l'aritmia sia refrattaria ai farmaci o nel caso sia possibile attraverso l'indagine diagnosticare un'eziologia possibilmente trattabile sia direttamente che attraverso la prevenzione secondaria come la miocardite(42,43), la cardiomiopatia aritmogena

o la sarcoidosi(44), malattie per le quali è importante ricordare che l'aritmia può essere la prima manifestazione. Poiché la cardiomiopatia aritmogena e la sarcoidosi cardiaca hanno carattere focale la BEM ha una bassa specificità con un alto numero di falsi negativi rimane quindi fondamentale anche lo EVM, anche allo scopo di guidare la BEM(45). La BEM può essere utile anche nei casi di bradicardia e anomalie di conduzione in cui la presentazione sia suggestiva di un'etiologia trattabile(46) come l'amiloidosi(47).

### **1.2.5 Malattie autoimmuni**

Riguardo le malattie autoimmuni, di cui già accennato riguardo le miocarditi, la BEM è raramente indicata, ma va considerata in quei pazienti con scompenso cardiaco progressivo non responsivo ai farmaci. In pazienti con LES la BEM può confermare la presenza di miocardite lupica, la cardiotoxicità indotta da idrossiclorochina e/o la vasculite e vasculopatia.(48) Nel caso di malattie sistemiche può anche essere importante effettuare una BEM del tessuto direttamente coinvolto dalla malattia.

### **1.2.6 Cardiomiopatia restrittiva e ipertrofica**

La BEM si può considerare in quei pazienti con cardiomiopatia restrittiva e ipertrofica se le indagini di primo livello e non invasive rimangono non conclusive o se c'è sospetto di disordini infiltrativi o da accumulo possibilmente trattabili(49). La BEM rimane raramente utilizzata nei pazienti con cardiomiopatia ipertrofica(50). Riguardo l'amiloidosi, la BEM è altamente sensibile e specifica e va considerata in quei pazienti in cui le indagini non invasive (o con minore rischio clinico) non siano definitive nella diagnosi(51). La tecnica standard utilizzata per la diagnosi di amiloidosi e caratterizzarne il tipo nelle biopsie endomiocardiche è la colorazione con rosso Congo, ma sono presenti anche numerose tecnologie come la spettrometria di massa al laser e l'immunolettromicroscopia che sembrano essere superiori all'immunoistochimica nell'identificare il tipo di amiloide coinvolto nella patologia, sebbene la tradizionale microscopia al rosso Congo rimanga fondamentale nella

diagnosi(52). Nel caso dell'emocromatosi con accumulo di ferro, si può avere coinvolgimento cardiaco con insufficienza. In questo caso la BEM può essere indicata nel caso in cui si abbia accumulo di ferro e imaging suggestivo per confermare il coinvolgimento miocardico(53). Nel caso di individui con ipertrofia ventricolare sinistra e sospetta malattia di Anderson-Fabry (malattia genetica autosomica dominante da accumulo lisosomiale da deficit di alfa-galattosidasi A) la BEM con microscopia elettronica è utile quando non siano presenti tutti i criteri diagnostici per confermare la diagnosi(54).

### **1.2.7 Tumori cardiaci**

Nei pazienti con tumori cardiaci il ruolo principale nella diagnosi è dell'imaging non invasivo. La biopsia può essere indicata nei pazienti con tumori primari o metastatici quando l'assessment non invasivo o una biopsia meno "rischiosa" non hanno dato diagnosi definitiva(12). La biopsia non è indicata per le masse intracardiache ad alto potenziale emboligeno come i mixomi tipici o i tumori del cuore sinistro(55). In ogni caso viene consigliata la guidance ecografica transesofagea per aumentare sicurezza ed efficacia della procedura(56).

### **1.2.8 Monitoraggio del rigetto nel trapianto di cuore**

La BEM è il gold standard per la diagnosi del rigetto post-trapianto di cuore. La BEM viene effettuata a step, solitamente con un protocollo di routine (rsBEM) che può essere più o meno frequente.(57) In particolare da quando si utilizzano i moderni farmaci immunosoppressori si è notata una riduzione dell'efficacia diagnostica di biopsie troppo frequenti. In particolare, si è visto che il tasso di rigetto acuto provato da biopsia clinicamente silente è dell'1,39% in un protocollo di 14 rsBEM per paziente nel primo anno post trapianto. Sebbene l'incidenza di complicanze sia comunque bassa, l'aumento del numero di biopsie porta a un aumento del rischio di complicanze BEM correlate, fino ad un 20,5% di rischio per paziente tra complicanze effettive e possibili nei pazienti dello studio(58). Un altro studio su un protocollo a bassa frequenza su 282 pazienti ha rilevato risultati diagnostici e mortalità e morbilità comparabili con il protocollo ad alta frequenza(59). La



maggior parte dei protocolli attuali consiglia una rsBEM ogni settimana durante il primo mese, ogni seconda settimana per i mesi successivi e una volta al mese per i primi 12 mesi e poi a frequenza variabile (vedi tab.1)(11). Un altro studio recente propone anche ad esempio di non fare più biopsie routinarie dopo 3 anni dal trapianto (visto il basso tasso di rigetto dopo i 3 anni) e sostituire l'approccio con uno basato sulla sintomatologia effettuando la BEM solo se necessario(60). La società internazionale del trapianto di cuore e polmoni ha sviluppato nel 1990 un sistema di grading istologico del grado di rigetto su campione bioptico post trapianto. Il sistema è stato rivisto nel 2004 ed è conosciuto come ISHLT-2004. I criteri indicano 4 livelli di rigetto (0R, 1R, 2R e 3R), dove R significa rivisti per non essere confusi con gli originali del 1990. Nella maggior parte dei casi una lesione di grado 0R o 1R (basso grado) non viene ulteriormente trattata mentre una di grado 2R e 3R (alto grado) comporta un aumento della terapia immunosoppressiva(61). La classificazione ISHLT-2004 in particolare assegna i gradi:

- 0R: nessun rigetto;
- 1R: rigetto lieve
  - Infiltrato interstiziale o perivascolare con fino a 1 focus di danno miocitico;
- 2R: rigetto moderato
  - Due o più foci di infiltrato con associato danno miocitico;
- 3R: rigetto severo
  - Infiltrato diffuso con danno miocitico multifocale con o senza edema, emorragia, vasculite.

Va ricordato che il rigetto cellulare acuto è caratterizzato da infiltrato infiammatorio prevalentemente linfocitico, con macrofagi e occasionali eosinofili, mentre la presenza di neutrofili (a meno dei casi più gravi) deve far sospettare processi alternativi (lesione ischemica in guarigione, miocardite). Sono normalmente assenti anche le plasmacellule che, se presenti, possono fare pensare a un effetto Quilty o a malattie linfoproliferative. Il danno miocitario (o necrosi miocitaria) è

definite come miocitolisi con clearing del sarcoplasma e dei nuclei, ingrandimento nucleare e talvolta nucleoli prominenti, spesso accompagnato da cellule infiammatorie perimetrali che rendono i bordi cellulari irregolari (va anche ricordato che la miocitolisi può essere presente anche nel danno ischemico)(62).

| Programmazione proposta per le rsBEM | Data dopo trapianto di cuore (settimane) |                               |  |
|--------------------------------------|--|-------------------------------|--|
|                                      | Alto significato diagnostico             | Medio significato diagnostico | Basso significato diagnostico                        |
| bassa frequenza                      | 2,4,8,12,16,20,24                        | 36 e 48                       | Solo se necessario                                   |
| media frequenza                      | 1,2,3,4,6,8,12,16,22                     | 28, 36, 44                    | 52 e poi se necessario                               |
| alta frequenza                       | 1,2,3,4,6,8,12,16,22                     | 28, 36, 44                    | 52 e poi una volta all'anno per i 4 anni successivi. |

Tabella 1: programma raccomandato per l'esecuzione di biopsie endomiocardiche (rsBEM) nel monitoraggio del rigetto da trapianto di cuore. Adattato da Seferovic et al. 2021.

### 1.3 Tecnica operatoria

La tecnica operatoria prevede l'utilizzo di cateteri endovascolari venosi o arteriosi in base alla sede del prelievo. Per la maggior parte dei pazienti la BEM del VD è sufficiente, la diagnosi sinistra viene solitamente preferita in quei casi in cui il paziente ha una patologia che interessa prevalentemente il cuore sinistro. È possibile anche effettuare una BEM BIV(63), che sembra essere migliore dal punto di vista diagnostico rispetto alla BEM del solo VD o VS(7).

#### 1.3.1 Preparazione

Come in tutte le procedure mediche, va ottenuto come prima cosa il consenso informato (Legge 219/2017). Prima della procedura vanno anche ottenuti i seguenti esami ematochimici e strumentali:

- Esami ematochimici complete con assetto coagulativo, in particolare:

- INR <1,5 e aPTT <50s. Se il paziente è in terapia eparinica questa va sospesa almeno un'ora prima della procedura. Terapia eparinica a basso peso molecolare va sospesa il giorno della procedura a meno di alto rischio trombotico. I nuovi anticoagulanti orali (o diretti) vanno sospesi come da specifiche del farmaco, in ogni caso sempre considerando i rischi del caso e la situazione individuale del paziente;
- ECG a 12 derivazioni ed ecocardiografia TT per escludere malattia valvolare severa e lesioni al sistema di conduzione;
- CMR con LGE con funzioni di guida della BEM, anche se i risultati in alcuni studi sono contrastanti, da un lato sembrando più sensibile e specifica(64), da un altro non mostrando particolari vantaggi rispetto alla BEM non guidata dall'enhancement al gadolinio(7);

È inoltre importante scegliere la sede per l'accesso vascolare, nel caso di BEM del VD venoso, solitamente la vena giugulare interna destra o la vena femorale, mentre l'arteria femorale (o radiale(65,66)) per la BEM del VS(63).

Una delle altre scelte preparatorie all'esecuzione della BEM è la scelta del biotomo. I biotomi utilizzati oggi sono di vari produttori e forme. Il più frequentemente utilizzato in Nord America è il biotomo di Caves-Schulz-Stanford modificato per la BEM del VS(63), mentre in molti centri europei si usa un biotomo Cordis modificato (diametro delle pinze di 1,8 mm(67)). Nello studio prima citato relativamente al confronto tra biopsie destre e sinistre veniva utilizzato anche un biotomo Maslanka con guida da 7F(7). Le varie forme di biotomo differiscono anche per la forma delle pinze e flessibilità, una descrizione delle quali per ogni biotomo supera l'intento di questa tesi. A causa della forma e flessibilità dei moderni biotomi, incapaci di proseguire e direzionarsi nell'albero vascolare, è necessario che questi siano affiancati a guide, che vengono inseriti nel ventricolo attraverso cateteri pigtail(68). L'accesso radiale sinistro con cateteri particolari, spesso senza rivestimento, è oggi considerato sicuro e con alto tasso di successo(69).

### 1.3.2 Controindicazioni

Le principali controindicazioni all'esecuzione di una BEM sono simili a quelle per una qualsiasi procedura di cardiologia interventistica, con la peculiarità che solitamente è utilizzato poco contrasto per cui sono meno importanti quelle relative all'ipersensibilità al contrasto. Va prestata inoltre particolare attenzione nel caso di impianto di pacemaker recente per il rischio di spostamento dei cateteri(11), sebbene sia sicuro farle in contemporanea(70). Va inoltre prestata particolarmente attenzione in caso di dilatazione per il corrispondente aumento del rischio di perforazione (in particolare a destra) dovuto a riduzione dello spessore della parete ventricolare(71).

Le controindicazioni assolute sono:

- Trombo intracardiaco;
- Aneurisma ventricolare;
- Stenosi tricuspide, polmonare o aortica severa;
- Protesi meccanica aortica o tricuspide.

Le controindicazioni relative sono:

- Sanguinamento attivo;
- Infezione e febbre;
- Endocardite infettiva;
- Gravidanza;
- Recente evento cerebrovascolare/TIA (<1 mese);
- Ipertensione incontrollata;
- Diminuzione dello spessore ventricolare (per la biopsia miocardica);
- Coagulopatia;
- Ipersensibilità al contrasto (va valutato caso per caso);
- Paziente non cooperativo (ma consenso fornito)(11).

### 1.3.3 Complicanze

Il rate di complicanze varia in un ampio range, tra lo 0,3% e il 3%(63). Uno studio comparativo sulle biopsie destre e sinistre, che ha coinvolto 755 pazienti, ha rilevato un tasso di complicanze maggiori dello 0,64% nelle biopsie sinistre, 0,82% in quelle destre. Il tasso di complicazioni minori varia da 0.64% a 2.89% nelle biopsie sinistre, tra 2.24% e 5.10% in quelle destre. Il range è dovuto al fatto che nello studio veniva valutato come complicanza una lieve effusione pericardica asintomatica, nell'ecografia effettuata immediatamente dopo la procedura(7). L'incidenza di complicanze è comunque calata nel tempo, in particolare a La Sapienza, in uno studio retrospettivo in cui sono state valutate le biopsie effettuate dal 1983 al 2010, con 4421 pazienti coinvolti in biopsie endomiocardiche, il tasso di complicanze maggiori è stato dello 0,33% per le sinistre e 0,45% per le destre, con un calo significativo del rate di complicanze maggiori nel tempo, da 1,6%-1,9% nel 1983 -1988, allo 0-0,3% tra il 2007 e il 2013, sottolineando come la maggiore esperienza riduca il tasso di complicazioni(72).

Le complicazioni principali sono:

- **Maggiori:**
  - Perforazione con tamponamento;
  - Effusione pericardica senza pericardiocentesi;
  - Embolismo cerebrale con TIA fino all'ictus;
  - Embolismo polmonare;
  - Blocco AV di 3° grado permanente;
  - Morte.
- **Minori:**
  - Tachicardie ventricolari o sopraventricolari transitorie;
  - Dolore toracico transitorio;
  - Blocco AV transitorio;
  - Ematoma intramiocardico;
  - Reazione vasovagale con ipotensione;
  - Ematoma locale;

- Piccola effusione pericardica asintomatica;
- Fistola AV femorale(7,72).

Una complicanza rara e minore è stata descritta recentemente da Kanhouche et al.(73) ed è la creazione di una fistola tra arteria discendente anteriore e ventricolo destro.

#### **1.3.4 Tecnica per l'accesso destro**

La tecnica più frequente consigliata dalla società europea di interventistica cardiovascolare percutanea (EAPCI) prevede l'utilizzo di un introduttore lungo in vena femorale, o un catetere guida coronarico passato in modo retrogrado attraverso la valvola tricuspide nel ventricolo destro utilizzando un filo guida standard a punta J. La punta del catetere guida o della guida è avanzata fino all'apice del ventricolo destro, si ruota poi la punta sotto controllo fluoroscopico a 60° LAO o comunque verso il setto (per prevenire le perforazioni). Il biotomo viene avanzato e le biopsie prelevate dal setto apicale. Le pinze del biotomo vanno aperte prima del contatto con la parete. È importante non prendere le biopsie da una posizione troppo vicina alla valvola polmonare e può risultare in dolore toracico, innalzamento dei livelli di troponina e danneggiamento della branca destra di conduzione. Una modalità di valutazione se il contatto con la parete è sufficiente è la presenza di una serie di BEV. Dopo ogni prelievo va lavata ripetutamente la guida(63).

#### **1.3.5 Tecnica per l'accesso sinistro**

La stessa EAPCI descrive anche le linee guida per l'accesso sinistro. È suggerita una eparinizzazione con eparina non frazionata con obiettivo ACT 150s, sebbene non sia necessaria se l'operatore è esperto e vengono eseguiti numerosi lavaggi con fisiologica eparinizzata dopo ogni prelievo. La procedura prevede l'inserzione di una guida lunga a punta dritta attraverso un pigtail attraverso l'arteria femorale. La punta della guida è posizionata distale all'apparato mitrale e distante dall'apice (che ha minor spessore in quel punto(74)). Il pigtail viene rimosso, la guida lavata e introdotto il biotomo. La procedura si può eseguire anche attraverso un catetere coronarico inserito in ventricolo attraverso un filo guida standard con punta a J. Il

biotomo viene avanzato nel ventricolo sinistro sotto controllo fluoroscopico bi-piano (30° RAO e 60° LAO indicativamente). Anche qui è importante che le pinze siano aperte prima del contatto con la parete ventricolare. Il contatto con la parete è solitamente accompagnato ad una serie di BEV. Il campione bioptico può quindi essere prelevato e il biotomo con il campione ritirato. Dopo ogni biopsia dal catetere guida va prelevato del sangue e deve essere lavato con fisiologica eparinizzata per evitare coaguli(63).

Esiste anche una possibilità di accesso venoso con approccio trans-settale per l'esecuzione della BEM del VS(75), che può essere utile in quei casi in cui contemporaneamente devono essere effettuate procedure a livello di ventricolo destro o degli altri.

### **1.3.6 Guidare la biopsia**

Queste metodologie appena descritte permettono una BEM non mirata. Numerosi studi e ricerche hanno sviluppato e confrontato diversi metodi di guida della biopsia per ottenere un miglior risultato diagnostico andando direttamente a cercare la lesione. Gli approcci principali sono:

- Biopsia guidata da EVM:

In questo caso, in particolare nei casi di malattia non uniformemente distribuita, alcuni studi hanno dimostrato come sia possibile effettuare una BEM guidata da EVM(76). Il metodo è particolarmente costoso e necessita di molto tempo e secondo alcuni studi ha anche un rendimento diagnostico basso(70). La tecnica prevede l'utilizzo di un catetere mappante ad alta densità per ottenere una mappa di voltaggio 3D del ventricolo e identificare le aree lesionate. Si può quindi collegare il biotomo al sistema di mappaggio ed estrarre la biopsia. Il metodo non viene comunque utilizzato di routine(63).

- Biopsia guidata con ecocardiografia intracardiaca:

Uno dei problemi più importanti nella biopsia dei tumori intracardiaci è la difficoltà di posizionare correttamente il biotomo sulla neoformazione. In

questo caso può essere utile utilizzare l'ecocardiografia intracardiaca come guida per il biotomo(55,77).

- Biopsia guidata da CMR  
è possibile utilizzare la CMR per guidare la BEM, alcuni studi in particolare mostrano come abbia un maggiore risultato diagnostico(78).

### **1.3.7 Monitoraggio post-procedurale**

Secondo la EAPCI il paziente dovrebbe essere sottoposto a monitoraggio pressorio e ECG per 12 ore successivamente alla procedura. Il controllo ecocardiografico può essere effettuato sistematicamente o solamente in caso siano presenti dei sintomi per verificare la presenza di un versamento pericardico o di tamponamento(63).

### **1.3.8 Limitazioni della BEM**

Una delle limitazioni principali delle biopsie endomiocardiche è il già citato errore di campionamento, in particolare a causa della natura focale e dei diversi gradi di severità della miocardite la diagnosi è particolarmente complessa con un alto rischio di falsi negativi proprio a causa di errori di sampling(79). Una delle soluzioni può essere utilizzare come routine una prima BEM BIV che ha un maggiore tasso di diagnosi che la BEM del singolo ventricolo (7). Inoltre bisogna ricordare che sebbene i rischi di complicanze siano relativamente bassi la BEM rimane una procedura invasiva ed esistono molti metodi di imaging cardiovascolare non invasivo che andrebbero comunque utilizzati se possibile in prima linea e comunque valutati prima di procedere direttamente alla procedura interventistica(63).

## **1.4 Biopsie sinistra e destra a confronto**

Oltre ai già citati esami preoperatori e tecniche operatorie specifiche e considerato il fatto che la BEM BIV ha un maggiore rate diagnostico, come già spiegato sopra, sono presenti alcuni svantaggi a campionare entrambi i ventricoli, non ultimo la necessità di due distinti accessi vascolari. Diventa importante quindi valutare le differenze per scegliere la sede della BEM. Oltre alle già citate diverse prevalenze di complicanza (può sembrare controintuitivo che le BEM del VD abbiano



un maggiore tasso di complicità gravi ma va ricordato che il ventricolo destro è molto più sottile del sinistro), è interessante osservare le differenze tra le rate diagnostiche dei due tipi di biopsie. In uno dei principali studi comparativi tra le due biopsie si è rilevato che, su 254 pazienti con diagnosi di miocardite attraverso biopsia saltare il ventricolo sinistro sarebbe risultato nel perdere il 12,6% dei casi di miocardite, saltando il destro si sarebbero persi il 7,1%(7). In un altro studio più recente in cui sono state analizzate delle biopsie biventricolari si è visto che la biopsia del ventricolo sinistro permette una diagnosi istopatologica nel 96,3% dei casi (2307 pazienti su 2396) mentre la biopsia destra nel 71,4% dei casi (1711 pazienti su 2396). Inoltre, la differenza era ancora più evidente nei casi in cui le anomalie strutturali o funzionali viste all'ecografia interessavano il solo ventricolo sinistro in cui una diagnosi si è ottenuta nel 97,8% dei casi di biopsia sinistra e nel 53% di biopsia destra. In particolare quindi la biopsia sinistra ha un maggior potere diagnostico in particolare in quelle malattie in cui il coinvolgimento destro è scarso(72).

### **1.5 Preparazione del campione per l'analisi istologica**

Secondo l'ACC, AHA e ESC andrebbero raccolti campioni da >1 regione per ventricolo e da 5 a 10 campioni per ventricolo(12), riducendo così il rischio di errori di campionamento. Poiché i campioni sono particolarmente delicati vanno manipolati con cura, utilizzando sempre materiale sterile per muovere i campioni tra il biotomo e il fissativo(63). Almeno 3, preferibilmente 4, frammenti di 1-2mm ciascuno andrebbero fissati subito in formalina tamponata al 10% a temperatura ambiente per l'analisi al microscopio ottico. Se indicato 1 o 2 campioni andrebbero congelati in azoto liquido e conservati a -80°C per possibili test molecolari o colorazioni particolari. Possono anche essere conservati in RNAlater. Se necessario un frammento può essere fissato in glutaraldeide al 2,5% o soluzione di Karnovsky per test ultrastrutturali. È anche importante nei pazienti con miocardite conservare un campione di sangue periferico in EDTA per successive analisi molecolari di confronto con il campione biotico(13).

### **1.5.1 Microscopia Ottica**

La microscopia ottica classica prevede di utilizzare diversi coloranti ciascuno dei quali necessita di uno specifico fissativo e preparazione. Oltre alla classica colorazione in ematossilina e eosina in campioni fissati in formalina inclusi in paraffina si possono preparare blocchetti in Tricromica di Mason-Mallory, Pentacromica di Movat, Weiert Van Gieson per identificare specifiche caratteristiche del tessuto. Altre colorazioni specifiche che sono utilizzabili sono la PAS con o senza diastasi (viene meglio nelle sezioni congelate), il rosso Congo, l'alcian blue o la tioflavina S/T, il blu di Prussia Perls. Sono possibili anche numerose colorazioni immunoistochimiche, tra le altre il CD45, CD20, CD3, CD4, CD8, CD68/PGM1, HLA-DR. HLA-ABC, la transtiretina, catene kappa e lambda, apolipoproteine, amiloide A o anticorpi specifici per la caratterizzazione tumorale. Nel caso di specifici dubbi diagnostici si possono utilizzare anticorpi per la distrofina. In campioni congelati si possono preparare colorazioni in Sudan nero, oil red O, analisi per SDH e COX, immunofluorescenza(13).

### **1.5.2 Analisi ultrastrutturale**

Studi sull'utilità dell'analisi ultrastrutturale nelle miocardiopatie sono ancora in corso, in ogni caso sembra possa essere comunque utile mantenerla come opzione per guidare i test genetici o a fini di ricerca(80). Rimane utile nelle desminopatie, nelle cardiomiopatie mitocondriali e in alcuni casi di cardiomiopatia dilatativa(13).

## **1.6 Anatomia patologica microscopica delle miocardiopatie**

In questa introduzione, parlando delle indicazioni alla BEM ho già citato alcune caratteristiche istopatologiche della miocardite e del rigetto nel trapianto di cuore. In questa sezione saranno rianalizzate una a una. In particolare vengono riportate le analisi per quelle malattie per cui il documento di consenso delle due associazioni europea e americana di Patologia Cardiovascolare (Leone et al)(13) riportano una classe di evidenza S (in cui vari studi peer-reviewed supportano l'utilità del test) o M (in cui gli studi supportano in modo misto l'utilità del test).

### **1.6.1 Cardiomiopatia dilatativa**

Le caratteristiche istologiche sono non specifiche e includono fibrosi, ingrandimento nucleare dei miociti, modifiche degenerative del sarcoplasma, attenuazione delle miofibre e segni di stiramento. La fibrosi può essere pericellulare, endocardica, sostitutiva o perivascolare. Si può effettuare un'analisi immunohistochimica per anomalie alle fibre muscolari, in particolare se associata a miopatia del muscolo scheletrico(13).

### **1.6.2 Distrofinopatie**

Ci sono varie mutazioni nel gene della distrofina che possono risultare in cardiomiopatia dilatativa, come la Duchenne e la Becker. Sono malattie X-linked perché il gene si trova sul cromosoma x (Xp21)(81). All'istologia tradizionale si rilevano variazioni non specifiche come fibrosi interstiziale, sostituzione fibroadiposa, ipertrofia dei miociti, miocitolisi. L'analisi indicata nel sospetto di questa patologia è l'immunohistochimica per la distrofina, che risulta patologicamente ridotta o assente, anche se è più precisa nelle biopsie di muscolo scheletrico. All'analisi ultrastrutturale si individuano irregolarità di membrana non specifiche. È comunque necessario per confermare la diagnosi effettuare test molecolari di screening della mutazione genetica(13).

### **1.6.3 Cardiomiopatie mitocondriali**

Le cardiomiopatie mitocondriali causano disfunzione della catena respiratoria, con trasmissione variabile. Il fenotipo della patologia è solitamente ipertrofico, non ostruttivo; possono essere presenti anche dilatazione biventricolare e scompenso cardiaco congestizio(82). Se sono presenti manifestazioni sistemiche la diagnosi si basa sulle biopsie sistemiche e i test genetici. Nel caso la miocardiopatia sia isolata si rilevano miociti ingranditi con estensiva vacuolizzazione citoplasmatica. L'analisi istoenzimatica per SDH e COX sono necessarie per la diagnosi in cui si rilevano miociti COX negativi e aumento dell'SDH che dimostrano un difetto della catena respiratoria. Molto utile è anche l'analisi ultrastrutturale che mostra prolifera-

zione mitocondriale con mitocondri giganti, inclusioni, aumento del glicogeno citoplasmatico e perdita di miofibrille contrattili. Fondamentale rimane l'analisi genetica(13).

#### **1.6.4 Cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro**

È una rara malattia primaria del miocardio con prevalenza di 1:2000 – 1:5000 nella popolazione. La presentazione primaria presenta morte improvvisa e aritmie ventricolari, particolarmente nel giovane e nell'atleta(83). L'anatomia patologica della malattia si caratterizza per una progressiva sostituzione fibroadiposa del miocardio che va incontro ad atrofia. Il setto è raramente coinvolto e la diagnosi si basa sui criteri di Padova. In particolare, in realtà oggi si preferisce parlare di cardiomiopatia aritmogena in modo generale visto che è noto il coinvolgimento di entrambi i ventricoli. La cardiomiopatia aritmogena viene quindi divisa in dominante destra, biventricolare e dominante sinistra(84). L'analisi istologica mostra appunto sostituzione fibrosa o fibroadiposa e atrofia miocardica non specifica. Il grasso da solo non è specifico per la diagnosi, perché si trova normalmente nel miocardio in particolare in sede antero-laterale apicale (85). Può essere presente anche ipertrofia miocitaria e vacuolizzazione. Poiché purtroppo la malattia non coinvolge il setto la classica BEM del VD che coinvolge quella parete potrebbe non essere particolarmente utile, l'accuratezza diagnostica aumenta se la BEM viene mappata attraverso EVM o CMR (13). I test immunoistochimici per la placoglobina hanno mostrato risultati interessanti, in particolare con una sensibilità del 91% e specificità dell'82% in uno studio del 2009. Molto interessante è il fatto che la placoglobina fosse ridotta anche in quei campioni prelevati da setto e ventricolo sinistro, aumentandone il significato diagnostico(86).

#### **1.6.5 Cardiomiopatia ipertrofica**

La cardiomiopatia ipertrofica è caratterizzata da aumento dello spessore della parete ventricolare e può essere simmetrica o asimmetrica. Le caratteristiche istologiche comprendono l'ipertrofia dei miociti, fibrosa interstiziale e sostitutiva, disor-

ganizzazione spaziale dei cardiomiociti (“disarray”), ed iperlasia intinale e ipertrofia della media di piccoli vasi intramurali. Solitamente non viene utilizzata la BEM per effettuare la diagnosi in quanto i metodi non invasivi sono specifici e sensibili(13).

#### **1.6.6 Endocardite parietale di Loeffler**

L’endocardite parietale di Loeffler o malattia endomiocardica eosinofila è tipica delle zone temperate e più prevalente negli uomini che nelle donne. All’analisi macroscopica si rileva una deposizione diffusa con trombo murale sopra l’endocardio ventricolare incorporato in una placca fibrosa. L’analisi istologica rileva miocardite eosinofila, danno endocardico, deposizione trombotica e una cicatrice fibrosa densa. I tre stadi che si riconoscono nel corso della malattia sono necrosi, stato trombotico, stadio fibrotico(87). La BEM può dare una diagnosi solo in fase acuta con la dimostrazione dell’infiltrazione di eosinofili endomiocardica, in concerto con le indagini ematochimiche(13).

#### **1.6.7 Sarcoidosi cardiaca**

La sarcoidosi è una malattia granulomatosa sistemica, e va ricordato che la causa di morte in metà dei pazienti con sarcoidosi è proprio dovuta al coinvolgimento cardiaco e va sempre ricordata nella diagnosi differenziale delle aritmie maligne non spiegate(88). La BEM ha una scarsa sensibilità a causa della focalità della malattia, sebbene una BEM positiva può mostrare un ampio coinvolgimento miocardico e peggiore prognosi(89).

#### **1.6.8 Amiloidosi cardiaca**

Nel caso dell’amiloidosi è noto il coinvolgimento cardiaco, l’amiloide in ematosilina eosina si mostra come una struttura amorfa, lievemente eosinofila e non strutturata. È importante che le biopsie vengano colorate con il rosso Congo, alcian blu modificato e tioflavina T per confermare la diagnosi di amiloidosi(13).

L'immunoistochimica specialmente se su campione congelato è utile per identificare il tipo di amiloide, importante per la successiva terapia(90). Per la tipizzazione sono preferibili l'immunolettromicroscopia e la spettrometria di massa.

#### **1.6.9 Cardiomiopatia da accumulo di ferro**

L'accumulo di ferro intramiocardico è causato da varie patologie come la beta talassemia e l'emocromatosi ereditaria. Il ferro tende a depositarsi inizialmente nei cardiomiociti a livello subepicardico e quindi non è sempre rilevabile a livello set-tale con rischio di errori di sampling(91). All'ematossilina eosina si notano granuli marroni intramiocitari che si colorano di blu se il campione viene preparato con blu di Prussia. La BEM è utile anche per valutare i risultati terapeutici. A corredo sono sempre consigliate analisi genetiche per la diagnosi definitiva(13).

#### **1.6.10 Desminopatie**

Le desminopatie sono un gruppo di malattie eterogeneo con vari gradi di miopatia da mutazione del filamento intermedio della desmina, con fenotipo vario, da dilatativo, restrittivo ad aritmogeno(92). La BEM può essere utile a produrre una diagnosi definitiva in casi sospetti per confermare il coinvolgimento in pazienti con test genetico positivo. Istologicamente si notano cambiamenti non specifici come fibrosi e un piccolo incremento nella grandezza delle fibre). L'analisi ultrastrutturale mostra aggregati di filamenti di desmina nel citoplasma dei cardiomiociti. All'immunomicroscopia elettronica si conferma che gli aggregate sono di desmina, visibile anche come abnormemente distribuita all'immunoistochimica(13).

#### **1.6.11 Malattia di Anderson – Fabry**

La malattia di Anderson – Fabry è una malattia genetica X-linked da deficit di  $\alpha$ -galattosidasi A con aumento di glicosfingolipidi e causa a livello cardiovascolare disturbi di conduzione, malattia valvolare e ipertrofia ventricolare sinistra(93). La BEM è utile nella diagnosi soprattutto nel caso in cui la ipertrofia sinistra non sia meglio spiegata. Istologicamente sono visibili cellule vacuolizzate con dislocazione

degli elementi contrattili alla periferia delle cellule. All'analisi ultrastrutturale sono visibili corpi lamellari concentrici(94).

#### **1.6.12 Tumori cardiaci**

A livello cardiaco si trovano sia tumori primari che secondari. I primari sono per il 90% benigni(95). La neoplasia più comune è il mixoma che corrisponde al 75% dei tumori benigni(96). I tumori maligni più comuni sono invece i sarcomi che hanno la stessa classificazione di quelli dei tessuti molli(97). Nel caso delle neoplasie cardiache l'istologia e l'immunoistochimica hanno funzione diagnostica e di tipizzazione della neoformazione, anche se spesso sono difficili da raggiungere con i biotomi e spesso si preferisce l'asportazione diretta(98).

### **1.7 Revisione della letteratura**

La letteratura è ricca di studi sull'utilità diagnostica e sull'importanza per le decisioni terapeutiche della BEM. In questa sezione viene riportata una tabella di riassunto (TAB2) dei più importanti articoli in letteratura sull'argomento, evidenziando di ciascuno le conclusioni che vengono riportate. Dall'analisi generale, comunque, si possono riassumere alcuni messaggi fondamentali:

1. La BEM è uno strumento importante e fondamentale per la diagnosi di numerose patologie miocardiche, nonostante il rischio di sampling error e la necessità di doverla talvolta ripetere;
2. Il potere diagnostico della BEM aumenta se viene associata alla biologia molecolare e alle indagini immunoistochimiche;
3. Il potere diagnostico della BEM è in generale maggiore per la sinistra rispetto alla destra, e aumenta ulteriormente se sono presenti campioni di entrambi i ventricoli, è anche in generale maggiore è il numero di campioni indagati;
4. La CMR con studio del LGE e lo EVM non sono ancora sensibili nella diagnosi come la BEM ma possono permettere di aumentare il potere diagnostico della stessa, se utilizzate per guidarne l'esecuzione, anche se gli studi sull'argomento riportano risultati contrastanti.

| Source                          | Scope of the Study   | N / LV/ RV/ BIV                                     | Results  | Conclusions  |
|---------------------------------|--|---|--|--|
| <b>Basso et al. 2008(85)</b>    | EMB protocol creation; diagnostic quantitative parameters for ARVC/D   | 60 ARVC heart specimens IN VITRO STUDY              | No diagnostic cut-off for any tissue parameter was found in LV EMB. LV cardiomyocyte diameter $28.3 \pm 1.9$ in ARVC/D vs. $20.6 \pm 1.3$ in controls ( $P = 0.008$ ), $38.0 \pm 1.8$ in DC ( $P = 0.03$ ) and $26.1 \pm 1.3$ in the elderly ( $P = 0.34$ ). | The residual myocardium is the main diagnostic morphometric parameter in ARVC/D<br>There is no diagnostic value of either septal or LV EMB.                        |
| <b>Yilmaz et al. 2010(7)</b>    | Risk of complications and diagnostic yield of LV, RV, or BIV EMB in patients with myocarditis and/or cardiomyopathy of unknown origin. | 755<br>265 (35.1%)<br>133 (17.6%)<br>357 (47.3%)    | The major complication rate for LV-EMB was 0.64% and for RV-EMB, 0.82%.<br>Diagnostic EMB results more often BIV EMBs (79.3%) compared to selective LV-EMB or selective RV-EMB (67.3%; $P < 0.001$ ).  | Both LV-EMB and RV-EMB are safe procedures.<br>CMR LGE+ guided EMB does not increase the number of diagnoses of myocarditis.                                       |
| <b>Chimenti et al. 2013(72)</b> | Analyzing retrospectively the incidence of complications and the diagnostic advantages of LVEMB  | 4221<br>1153 (27.3%)<br>672 (15.9%)<br>2396 (56.8%) | Diagnostic yield 97.8% LVEMB vs 53% RVEMB in isolated LV involvement.<br>Diagnostic yield 98.1% LVEMB vs 96.5% RVEMB when dominant RV involvement  | LVEMB is a safe diagnostic procedure. It seems diagnostically more contributive than RVEMB when cardiomyopathy is associated with normal or poorly compromised RV. |



|                                   |   |                                       |   |   |
|-----------------------------------|---|---------------------------------------|---|---|
| <b>Menezes et al. 2020(66)</b>    | transradial EMB feasibility, safety, usefulness and diagnostic yield.   | 27 (only LV)                          | LV EMB major and minor complications: 0.33-0.64% and 2.2%-2.89%, respectively.  | Trans-radial LV EMB provides a safe and feasible method for EMB, with a good diagnostic yield and clinically meaningful results in properly selected patients |
| <b>Casella et al. 2021(99)</b>    | Diagnostic yield EVM guided EMB and its safety in patients with ARVC.   | 104<br>12 (11%)<br>85 (81%)<br>7 (6%) | 20 (43%) patients reached a diagnosis of ARVC after EMB.<br>No analysis of LVEMB vs RVEMB diagnostic yield.                             | High diagnostic efficacy and safety of EVM-guided EMB in patients with ARVC.  |
| <b>Dominguez et al. 2022(100)</b> | Clinical profile, outcomes, and prognostic factors of patients with suspected myocarditis/ICM undergoing EMB. | 99<br>29 (29%)<br>66 (67%)<br>4 (4%)  | Rate of complications in RV EMB 4.4% vs LV EMB 3.4% (not statistically significant).<br>No analysis of LVEMB vs RVEMB diagnostic yield. | EMB allows an etiological diagnosis in more than half of patients with suspected myocarditis/ICM when IHC techniques are used (no comparison RVEMB vs LVEMB)  |

*Tabella II: revisione della letteratura sull'utilizzo, sicurezza ed efficacia della biopsia endomiocardica sinistra e biventriolare. Legenda: RV=ventricolo destro, LV= ventricolo sinistro, BIV= biventriolare, EMB= biopsia endomiocardica, ARVC/D= cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro, ICM= Cardiomiopatia infiammatoria, CMR= risonanza magnetica cardiovascolare, LGE+=positività al Late Gadolinium Enhancement ULVACM= cardiomiopatia aritmogena sinistra non definita, MACE= effetti cardiovascolari avversi maggiori, HFpEF= scompenso cardiaco a frazione di eiezione preservata, DCM= cardiomiopatia dilatativa, IHC= immunoistochimica.*

## **1.8 Scopo dello studio**

Lo scopo della ricerca è di investigare il ruolo diagnostico della BEM del ventricolo sinistro e biventriolare, analizzando la correlazione tra i dati clinici e le indagini istologiche su campioni di BEM pervenute al nostro centro dai centri cardiologici di riferimento di Ancona e Monzino di Milano dal 2017 al 2022.

## Capitolo 2 - Materiali e Metodi

### 2.1. Popolazione di studio

La popolazione di studio comprende i pazienti sottoposti a BEM sinistra provenienti dai centri cardiologici di Ancona Umberto I e Monzino. Sono stati analizzati i referti di 329 casi estratti dal database dell'UOC Patologia Cardiovascolare dell'Azienda Ospedale Università di Padova, di cui sono stati estratti i referti e creata una tabella di dati. Dai 329 item in esame sono stati esclusi 6 campioni perché non di endomiocardio prelevati attraverso BEM. Tra questi 2 erano campioni con materiale ematico da lavaggio di catetere epicardico, 1 biopsia intraoperatoria cardiocirurgica. I 323 (98,2%) campioni rimanenti (di cui 80 (24,8%) da Ancona e 243 (75,2%) dal centro cardiologico Monzino) sono stati analizzati per sede di prelievo e ulteriormente divisi in BEM destre (199 pazienti (61,6%)) non oggetto di questa indagine, e BEM sinistre e biventricolari (124 pazienti (38,4%) di cui 50 da Ancona (40,3%) e 74 dal centro cardiologico Monzino (59,7%)). I pazienti interessati dallo studio sono quindi 124, le BEM sinistre esclusive sono 91 (73,4%) mentre sono 33 (26,6%) le BEM biventricolari. I pazienti sono 92 (74,2%) di sesso maschile e 32 (25,8%) di sesso femminile, l'età media è 43,85 anni, l'età mediana 46 anni.

Durante la revisione delle BEM al microscopio ottico sono stati eliminati dallo studio altri 8 pazienti di cui 2 perché il materiale bioptico non era adeguatamente analizzabile qualitativamente e quantitativamente, 3 perché non specificata la localizzazione del prelievo bioptico destro o sinistra, 2 perché masse miocardiche, 1 perché il campione presentava solo fibrosi senza miocardio riconoscibile (inadeguata). Uno dei casi riportato come BEM biventricolare era effettivamente un caso di biopsia solo sinistra. I pazienti inclusi nell'analisi statistica dello studio sono 116, di cui 91 (78,4%) biopsie esclusive sinistre e 25 (21,6%) biopsie biventricolari. Dei 116 pazienti, 48 provengono dal centro di Ancona (41,4%) e 68 da Milano (58,6%). I pazienti sono 86 (74,1%) di sesso maschile e 30 (18,1%) di sesso femminile, l'età media alla biopsia è 41,54 anni (range 10-74), l'età mediana alla biopsia è 43 anni.

## **2.2. Analisi dei campioni**

Una volta campionata la popolazione che rispettava i criteri di inclusione sono stati richiesti i dati clinici dei pazienti al centro di origine dei campioni per poter procedere allo studio delle correlazioni anatomo-cliniche. In particolare sono stati richiesti: la diagnosi e sospetto clinico, la presenza di attività sportiva agonistica, l'età all'inizio dei sintomi, il dolore toracico, un pregresso arresto cardiaco, storia familiare di morte cardiaca improvvisa o cardiomiopatie, alterazioni elettrocardiografiche (bassi voltaggi del complesso QRS, inversione onde T, alterazioni della ripolarizzazione, episodi di TV o FV), presenza di più di 500 BEV in 24 ore, FE%, dilatazione del ventricolo sinistro, EDV/BSA, analisi alla CMR (LGE, se positivo la localizzazione), presenza di EVM e sua positività (con differenziazione tra positività unipolare, bipolare o entrambi), presenza di test genetico. Le biopsie sono state poi analizzate al microscopio ottico e ricavati la presenza di:

- fibrosi o fibroadiposi e sua quantificazione percentuale;
- infiammazione con o senza necrosi (cutoff CD3+>7/mm<sup>2</sup>);
- ispessimento endomiocardico
- alterazioni cardiomiopatiche, di vacuolizzazioni e il diametro dei miociti.

In un subset di pazienti è stato anche valutata la presenza di prolasso mitralico nei pazienti.

## **2.3. Analisi statistica**

L'analisi statistica dei risultati è stata effettuata utilizzando le funzionalità di calcolo del software Excel e il software Jamovi.

## Capitolo 3 – Risultati

### 3.1 Risultati

Dall'analisi dei risultati ottenuti risultano i seguenti valori di prevalenza dei singoli item clinici analizzati che sono riportati nella tabella sottostante (TAB3).

|  |               |
|--|---------------|
| Popolazione totale, n  | 116           |
| Maschi, N (%)  | 86 (74,1%)    |
| Età, Media (range)   | 43,7 (16-75)  |
| Diagnosi clinica di miocardite, N (%)                                    | 40 (34,5%)    |
| Diagnosi clinica di cicatrice sinistra isolata, N (%)                    | 18 (15,5%)    |
| Diagnosi clinica di cardiomiopatia aritmogena, N (%)                     | 32 (27,6%)    |
| Diagnosi clinica di cardiomiopatia ipertrofica, N (%)                    | 1 (0,9%)      |
| Diagnosi clinica di cardiomiopatia dilatativa, N (%)                     | 24 (20,7%)    |
| Presenza di dolore toracico, N (%)                                       | 38 (32,8%)    |
| Pregresso arresto cardiaco, N (%)  | 9 (7,8%)      |
| Attualmente atleta agonista, N (%)                                       | 31 (26,7%)    |
| Ex atleta agonista, N (%)  | 7 (6,0%)      |
| Anamnesi familiare positiva per morte improvvisa o cardiomiopatia, N (%) | 19 (16,4%)    |
| Bassi voltaggi ECG, N (%)  | 20 (17,4%)    |
| Inversione onde T ECG, N (%)   | 41 (35,7%)    |
| Alterazioni della ripolarizzazione ECG, N (%)                            | 66 (57,4%)    |
| Episodi di TV o FV, N (%)  | 55 (47,4%)    |
| >500 BEV/24 ore all'ECG Holter, N (%)                                    | 70 (70,7%)    |
| FE% ecocardiografica, Media (range)                                      | 51,8 (21-73)  |
| FE ridotta (<50%), N (%)   | 38 (32,8%)    |
| EDV/BSA ecocardiografica (ml/m <sup>2</sup> ), Media (range)             | 45,6 (21-108) |

|  |             |
|--|-------------|
| Dilatazione VS ecocardiografica, N (%) | 45 (38,8%)  |
| LGE positivo, N (%)                    | 104 (93,7%) |
| EVM positivo, N (%)                    | 86 (74,8%)  |
| EVM unipolare positivo, N (%)          | 69 (60%)    |
| EVM bipolare positivo, N (%)           | 69 (60%)    |
| Biopsie biventricolari, N (%)          | 25 (21,6%)  |

*Tabella III: tabella di analisi della popolazione per dati clinici e anagrafici dei pazienti nel database dello studio.*

All'analisi dei campioni al microscopio ottico delle BEM del VS sono stati trovate le seguenti prevalenze (TAB4):

|   |                   |
|---|-------------------|
| Fibrosi istologica VS, N (%)                    | <b>76 (65,5%)</b> |
| Fibroadiposi istologica VS, N (%)               | 11 (9,5%)         |
| Fibrosi o fibroadiposi %, media (range)         | 11,5 (0-65)       |
| Infiammazione senza necrosi VS, N (%)           | 6 (5,2%)          |
| Infiammazione con necrosi VS, N (%)             | 4 (3,4%)          |
| Ispessimento endocardico VS, N (%)              | 99 (85,3%)        |
| Alterazioni cardiomiopatiche VS, N (%)          | 78 (67,2%)        |
| Vacuolizzazioni VS, N (%)                       | 36 (31,0%)        |
| Diametro medio cardiomiociti VS (micron), N (%) | 20,9 (12-31)      |

*Tabella IV: tabella di analisi della popolazione per dati istologici della BEM VS dei pazienti.*

Le biopsie in cui non è stata rilevata alcuna alterazione sono 2 (1,72%), considerando l'ispessimento endocardico come elemento aspecifico e non alterazione (non essendo noto il significato istologico) le biopsie aspecifiche (senza alterazioni) risultano 17 (14,7%).

Analizzando le biopsie biventricolari, al confronto tra le biopsie del VD e del VS risulta che in 2 casi (8%) la BEM del VD presentava fibrosi quando la sinistra era negativa. In 2 casi (8%) era presente fibroadiposi a destra quando era assente a

sinistra. In tutti gli altri casi la BEM del VS presentava più alterazioni di quella del VD. I dati di confronto sono presentati in TAB 5.

| <b>BIV-BEM, N=25</b>                                 | <b>BEM-VS</b> | <b>BEV-VD</b> |
|--|---------------|---------------|
| Fibrosi, n (%)                                       | 18 (72%)      | 8 (32%)       |
| Fibroadiposi, n (%)                                  | 0             | 2 (8%)        |
| Fibrosi o fibroadiposi %, media (range)              | 11,1 (0-60)   | 4,56 (0-45)   |
| Infiemmazione senza necrosi, n (%)                   | 3 (12%)       | 0             |
| Infiemmazione con necrosi, n (%)                     | 0             | 0             |
| Ispessimento endocardico, n (%)                      | 21 (84%)      | 14 (56%)      |
| Alterazioni cardiomiopatiche, n (%)                  | 15 (60%)      | 7 (28%)       |
| Diametro medio cardiomiociti (micron), media (range) | 19,4 (12-28)  | 16,1 (10-23)  |

*Tabella V: confronto tra i dati istologici delle biopsie destre e sinistre nelle biopsie biventricolari*

Da questi dati è stata creata una matrice di correlazione per evidenziare se fossero presenti delle correlazioni significative (p value desiderato <0,05) all'interno dei vari dati.

Sono risultate come significative le correlazioni tra la presenza di fibrosi nella BEM del VS e le alterazioni della ripolarizzazione e la dilatazione del VS, tra la fibroadiposi ed episodi di aritmie ventricolari maligne, tra l'ispessimento endocardico e la presenza di >500BEV all'Holter nelle 24 ore, la riduzione di FE, la dilatazione del VS, l'infiammazione con necrosi e la presenza di un EVM positivo.

Le alterazioni cardiomiopatiche hanno una correlazione significativa con la presenza di aritmie ventricolari maligne, la riduzione di FE, la dilatazione ventricolare, la positività dello EVM. Le vacuolizzazioni correlano con la presenza di aritmie maligne e la riduzione della FE.

Dall'analisi dei pazienti sono risultate anche correlate significativamente, anche se non oggetto dello studio, la riduzione della FE con l'inversione delle onde T all'ECG di superficie. Alcune relazioni con significatività molto alta (p value <0,001) sono

state utilizzate e verificate per valutare la coerenza interna del database e confermarne il valore statistico. In particolare, è risultata una correlazione tra un pregresso arresto cardiaco e la presenza di aritmie maligne, tra le alterazioni della ripolarizzazione e l'inversione delle onde T all'ECG, la dilatazione del VS con le alterazioni della ripolarizzazione e la riduzione dell'FE, l'esclusività reciproca di fibrosi e fibroadiposi. Per ciascuna diagnosi clinica sono poi stati rilevate la frequenza di presentazione delle alterazioni bioptiche.

### 3.2 Diagnosi e alterazioni istologiche

Nella prima parte della descrizione dei risultati ottenuti dal nostro lavoro sono state messe in relazione le diagnosi cliniche indicate dai centri cardiologici di provenienza dei campioni con le alterazioni riscontrate all'analisi con il microscopio ottico. In questa prima analisi è stata messa in relazione la diagnosi con la presenza di infiammazione con necrosi (cioè, di miocardite).

#### Diagnosi clinica e infiammazione con necrosi

In tutti i casi istologici di infiammazione con necrosi (4 campioni) il sospetto clinico era di miocardite ( $p=0,053$ ).

1=MIOCARDITE; 2= CICATRICE SINISTRA ISOLATA; 3=ACM/BIV ACM; 4= DCM

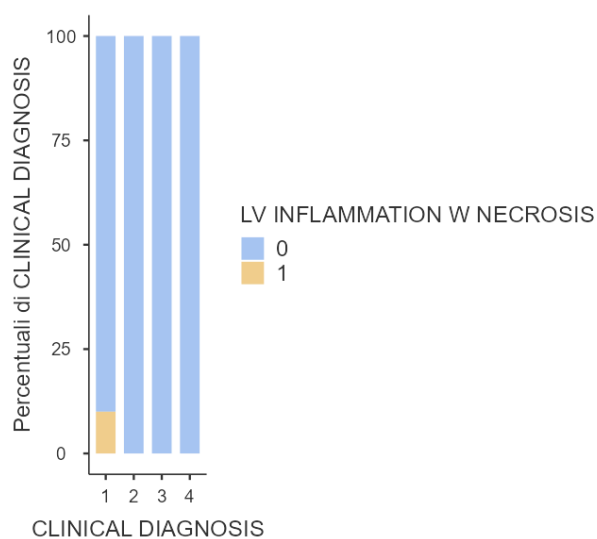


Figura 2: correlazione tra diagnosi clinica ed evidenza istologica di infiammazione con necrosi.



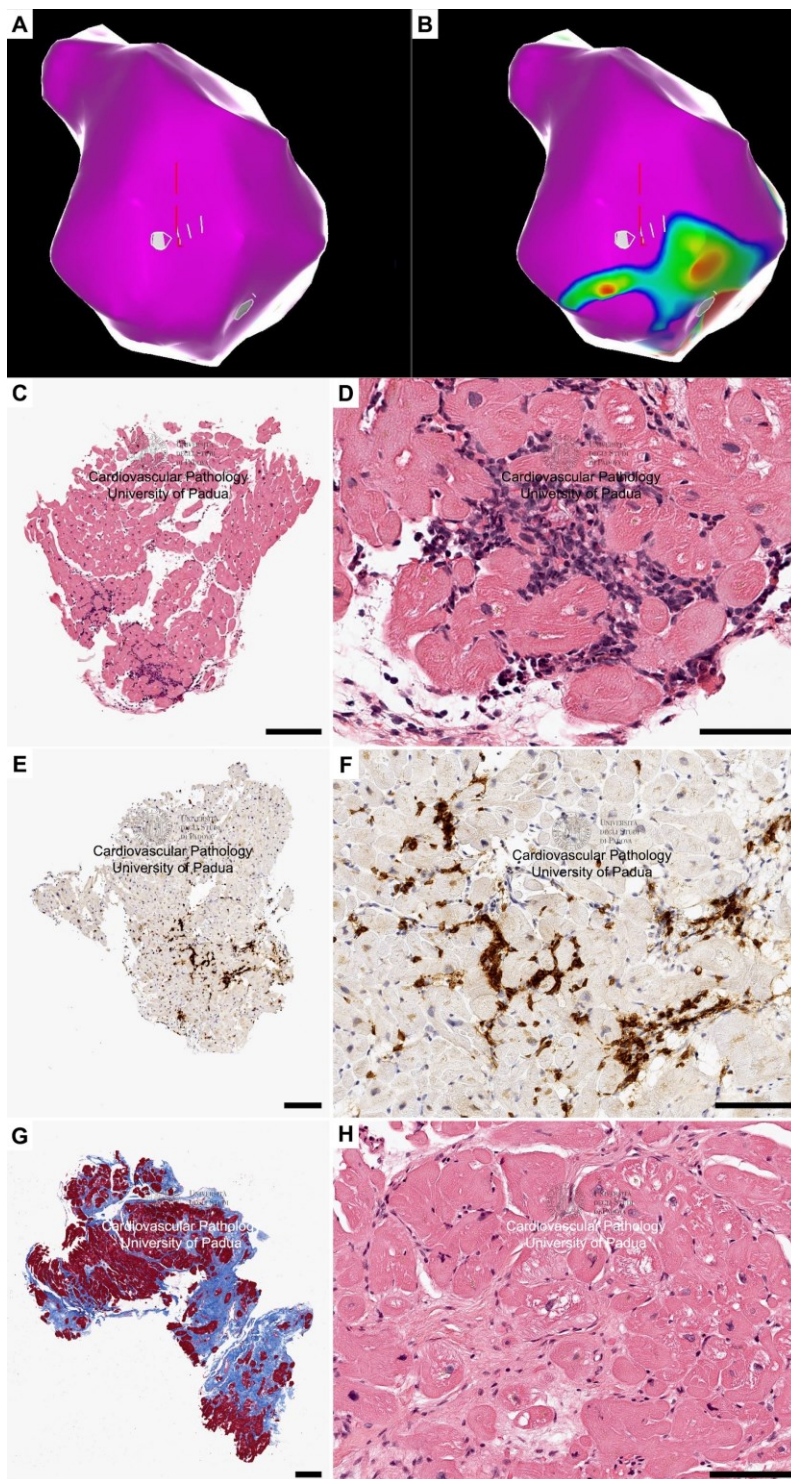


Figura 3: BEM VS di paziente con sospetto clinico di miocardite. A) EVM bipolare senza alterazioni di rilievo. B) L'EVM unipolare evidenzia dei bassi potenziali in regione subepicardica della parete posteriore (proiezione latero-laterale). C) Il frammento mostra due focolai infiammatori. D) A maggiore ingrandimento, l'infiammazione risulta essere associata a necrosi miocitaria. E-F) L'immunoistochimica per CD3 conferma la natura linfocitaria dell'infiltrato infiammatorio. G) In un altro frammento risulta evidente la presenza di fibrosi sostitutiva, a testimonianza della natura subacuto-cronica del processo. H) I cardiomiociti mostrano spiccate alterazioni cardiomiopatiche, con marcata ipertrofia e vacuolizzazione citoplasmatica. C, D, H) Colorazione ematossilina-eosina; E, F) Immunoistochimica per CD3; G) Colorazione tricromica di Heidenhain. Barre C 200  $\mu$ m, D 60  $\mu$ m, E 200  $\mu$ m, F 100  $\mu$ m, G 200  $\mu$ m, H 100  $\mu$ m

### Diagnosi clinica e infiammazione senza necrosi

Nei 6 casi di infiammazione senza necrosi 5 (83,3%) avevano un sospetto clinico di miocardite, 1 (16,7%) sospetto clinico di cardiomiopatia aritmogena.

1=MIOCARDITE; 2= CICATRICE SINISTRA ISOLATA; 3=ACM/BIV ACM; 4= DCM

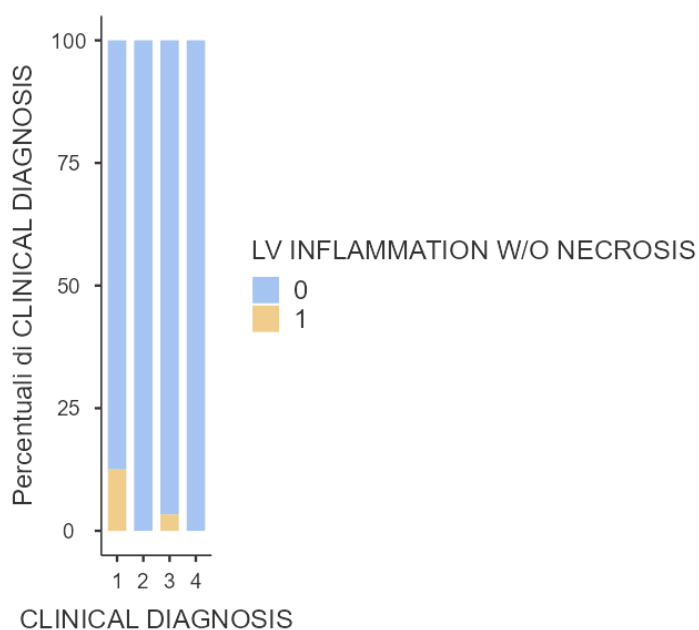


Figura 4: correlazione tra diagnosi clinica ed evidenza istologica di infiammazione senza necrosi.

### Diagnosi clinica e alterazioni cardiomiopatiche alla BEM VS

Le alterazioni cardiomiopatiche sono presenti in tutti i diversi tipi di diagnosi. Analizzando ciascuna categoria diagnostica si vede che la presenza di alterazioni cardiomiopatiche è del 55,0% nei casi di sospetta miocardite, nel 61,1% dei casi di cicatrice sinistra isolata, nel 71,9% dei casi di sospetta cardiomiopatia aritmogena e nell'83,3% dei casi di cardiomiopatia dilatativa.

1=MIOCARDITE; 2= CICATRICE SINISTRA ISOLATA; 3=ACM/BIV ACM; 4= DCM

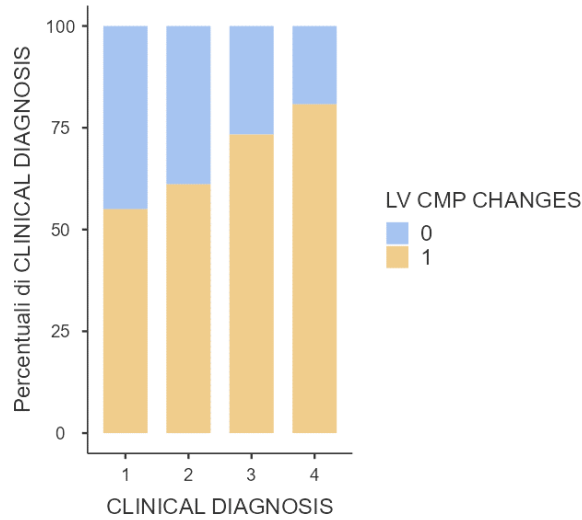


Figura 5: correlazione tra diagnosi clinica ed evidenza istologica di alterazioni cardiomiopatiche.

### Diagnosi clinica e fibrosi alla BEM VS

Il rapporto con la fibrosi mostra una frequenza di alterazioni rispetto alla diagnosi simile alle alterazioni cardiomiopatiche. La fibrosi è presente nel 50,0% dei casi di sospetta miocardite, nel 66,7% dei casi di cicatrice sinistra isolata, nel 75% dei casi di sospetta cardiomiopatia aritmogena e nel 79,2% dei casi di cardiomiopatia dilatativa.

1=MIOCARDITE; 2= CICATRICE SINISTRA ISOLATA; 3=ACM/BIV ACM; 4= DCM

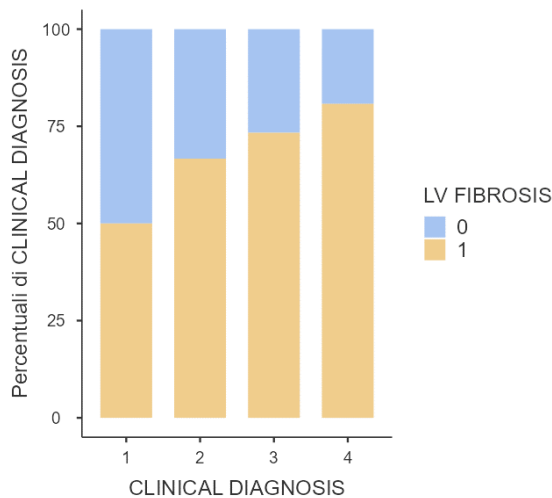


Figura 6: correlazione tra diagnosi clinica ed evidenza istologica di fibrosi.

### Diagnosi clinica e fibroadiposi alla BEM VS

Nel rapporto con la fibroadiposi, sugli 11 casi in cui è stata riscontrata l'alterazione 5 erano sospette miocarditi, 3 sospette cardiomiopatie aritmogene, 2 casi di sospetta cardiomiopatia dilatativa e 1 cicatrice sinistra isolata.

1=MIOCARDITE; 2= CICATRICE SINISTRA ISOLATA; 3=ACM/BIV ACM; 4= DCM

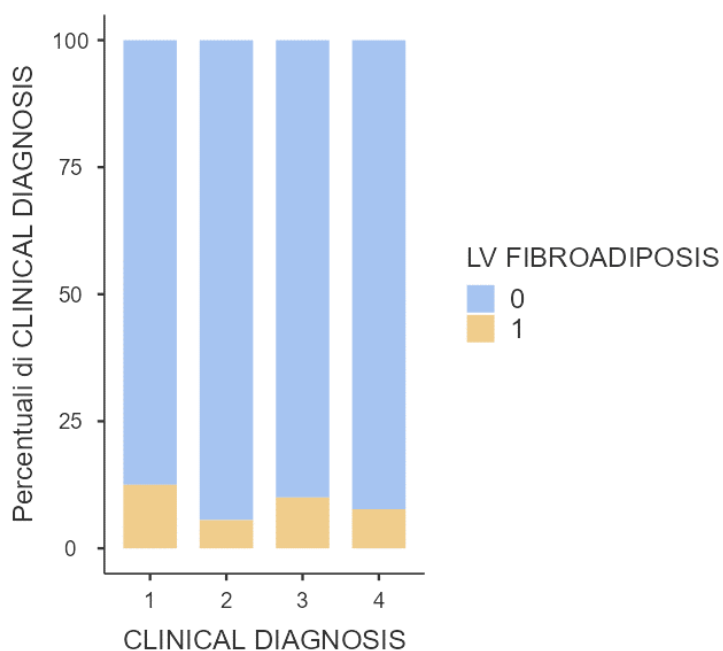


Figura 7: correlazione tra diagnosi clinica ed evidenza istologica di fibroadiposi.

### Diagnosi clinica e vacuolizzazioni alla BEM VS

Le vacuolizzazioni sono presenti in 36 campioni. Di questi 12 sono presenti nei casi di sospetta miocardite, 5 nei casi di cicatrice isolata sinistra, 5 nei casi di sospetta cardiomiopatia aritmogena, 14 nei casi di sospetta cardiomiopatia dilatativa. La maggior presenza di vacuolizzazioni nei pazienti con sospetta cardiomiopatia dilatativa è significativa ( $p=0,008$ ).

1=MIOCARDITE; 2= CICATRICE SINISTRA ISOLATA; 3=ACM/BIV ACM; 4= DCM

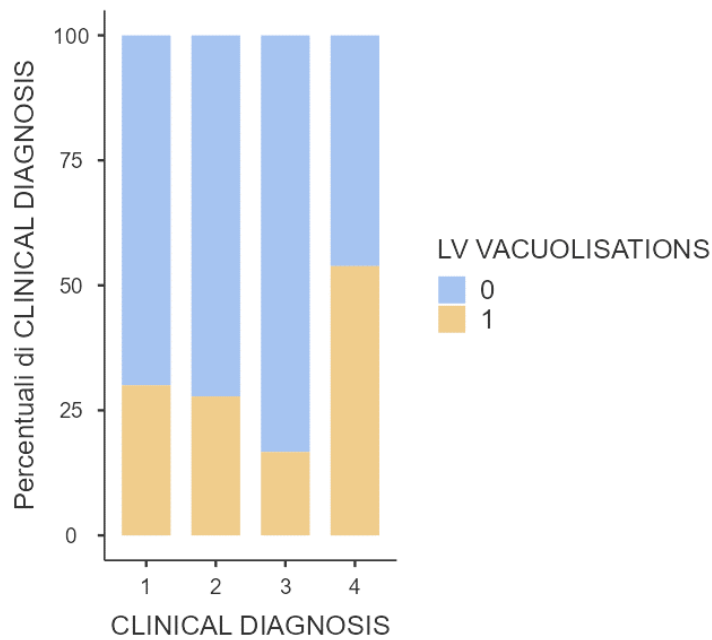


Figura 8: correlazione tra diagnosi clinica ed evidenza istologica di vacuolizzazioni.

### 3.3 Correlazioni significative tra alterazioni istologiche e dati clinici

In questa seconda sezione di descrizione dei risultati vengono analizzate le relazioni significative tra dati clinici e alterazioni istologiche misurate nella BEM del VS. Nelle BEM del VD non ci sono relazioni significative nei casi esaminati nel nostro studio.

#### Fibrosi e alterazioni della ripolarizzazione

La fibrosi dimostrata istologicamente è più presente nei pazienti con alterazioni della ripolarizzazione rispetto a quelli senza l'alterazione elettrocardiografica (odds ratio 3,26 [95% interval 1,46-7,29]), la p è 0,003.

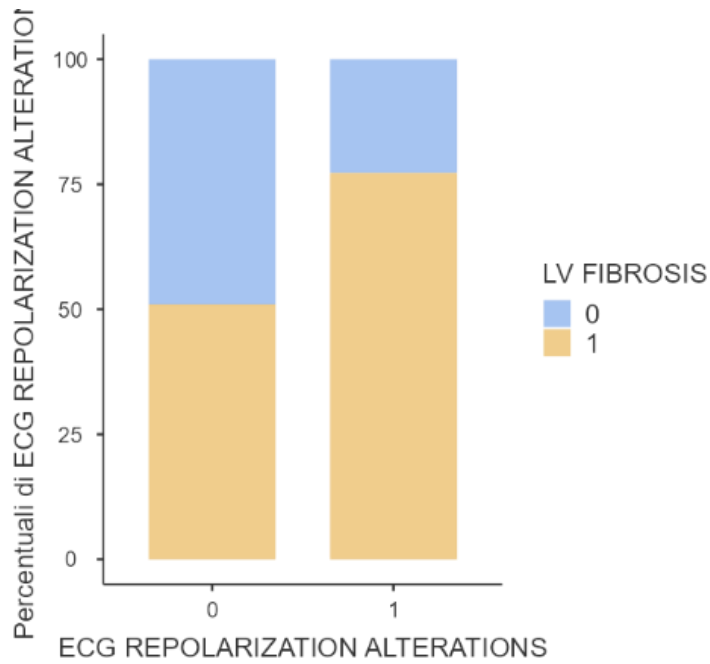


Figura 9: relazione tra alterazioni della ripolarizzazione e fibrosi verificata istologicamente del VS

### Dilatazione VS e fibrosi

La fibrosi dimostrata istologicamente è più presente nei pazienti con dilatazione del ventricolo sinistro rispetto a quelli senza l'alterazione ecocardiografica (odds ratio 3,10 [95% interval 1,30-7,38]), la p è 0,009.

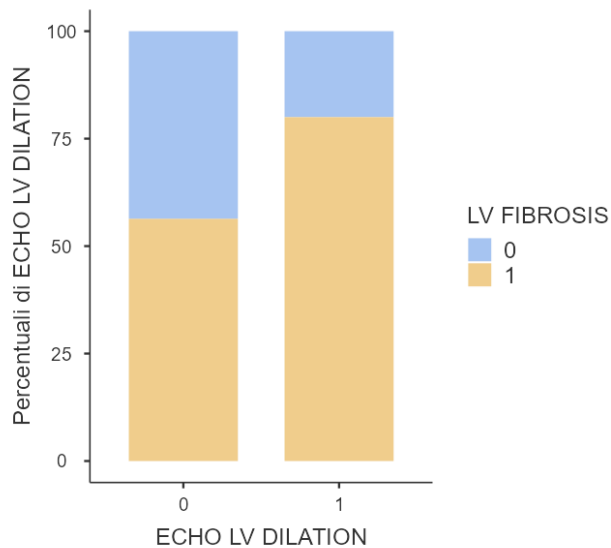


Figura 10: correlazione tra dilatazione del VS dimostrata ecocardiograficamente e fibrosi dimostrata istologicamente.

### Episodi di TV o FV e fibroadiposi

La presenza di fibroadiposi dimostrata istologicamente è più presente nei pazienti con episodi di TV o FV rispetto a quelli senza episodi di aritmie ventricolari maligne (odds ratio 5,77 [95% interval 1,19-28,0]), la p è 0,016.

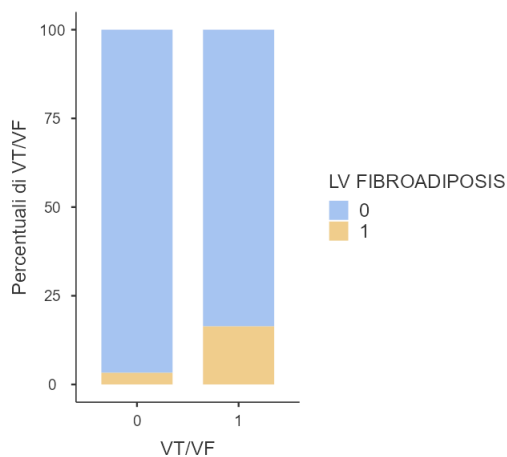


Figura 11: correlazione tra episodi di TV o FV e fibroadiposi dimostrata istologicamente.

### Riduzione della FE e alterazioni cardiomiopatiche

Le alterazioni cardiomiopatiche dimostrate istologicamente sono più presenti nei pazienti con riduzione dell'FE rispetto a quelli senza l'alterazione ecocardiografica (odds ratio 3,71 [95% interval 1,39-9,90]), la p è 0,007.

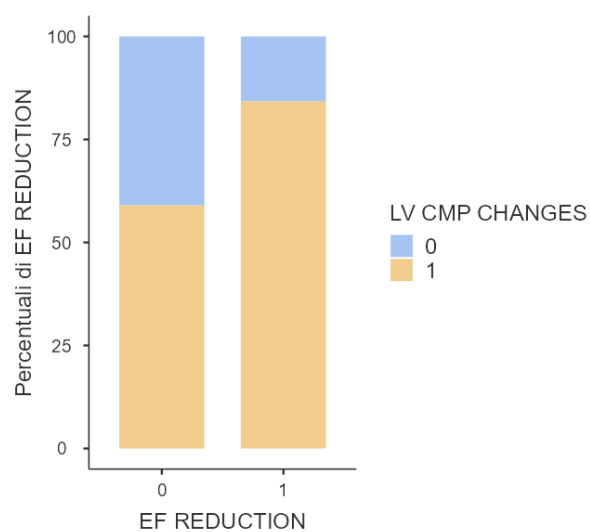


Figura 12: correlazione tra riduzione della FE dimostrata ecocardiograficamente e alterazioni cardiomiopatiche dimostrate istologicamente.

### Dilatazione del VS dimostrata all'eccardiografia e alterazioni cardiomiopatiche

Le alterazioni cardiomiopatiche dimostrate istologicamente sono più presenti nei pazienti con dilatazione del VS rispetto a quelli senza l'alterazione ecocardiografica (odds ratio 2,76 [95% interval 1,16-6,59]), la p è 0,020.

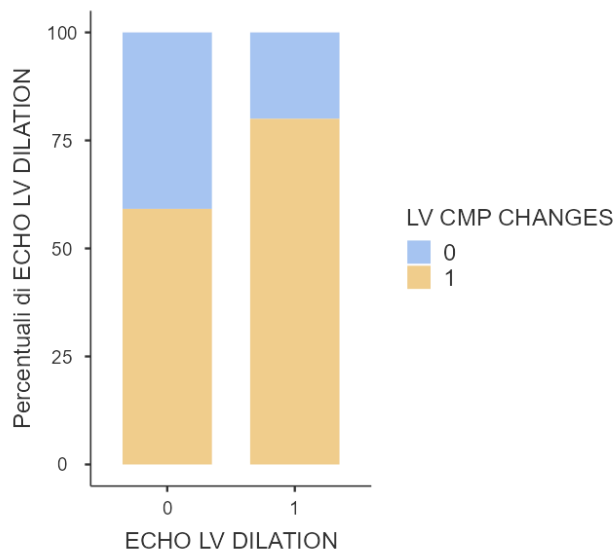


Figura 13: correlazione tra dilatazione del VS dimostrata ecocardiograficamente e alterazioni cardiomiopatiche dimostrate istologicamente.

### Episodi di TV e FV e alterazioni cardiomiopatiche

Le alterazioni cardiomiopatiche dimostrate istologicamente sono più presenti nei pazienti con episodi di TV o FV rispetto a quelli senza la presenza di aritmie maligne ventricolari (odds ratio 2,66 [95% interval 1,18-6,02]), la p è 0,017.



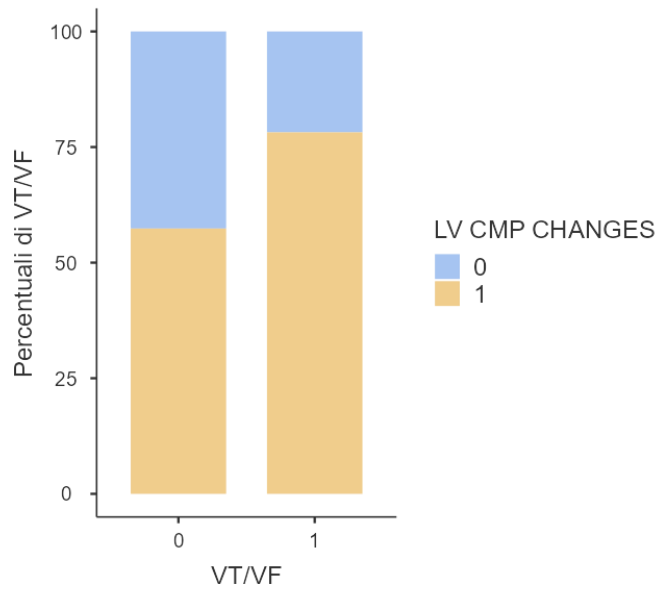


Figura 14: correlazione tra episodi di TV o FV e alterazioni cardiomiopatiche dimostrate istologicamente.

### EVM positivo e alterazioni cardiomiopatiche

Le alterazioni cardiomiopatiche dimostrate istologicamente sono più presenti nei pazienti con alterazioni all'EVM rispetto a quelli senza la presenza delle alterazioni allo EVM (odds ratio 2,56 [95% interval 1,07-6,11]), la p è 0,032.

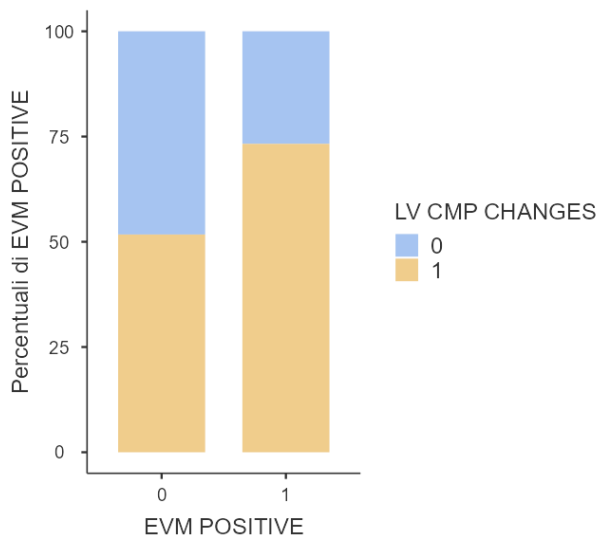


Figura 15: correlazione tra positività dello EVM e alterazioni cardiomiopatiche dimostrate istologicamente.

### Riduzione della FE e vacuolizzazioni

Le vacuolizzazioni dimostrate istologicamente sono più presenti nei pazienti con riduzione dell'FE rispetto a quelli senza la presenza delle alterazioni ecocardiografiche (odds ratio 3,59 [95% interval 1,56-8,25]), la p è 0,002.

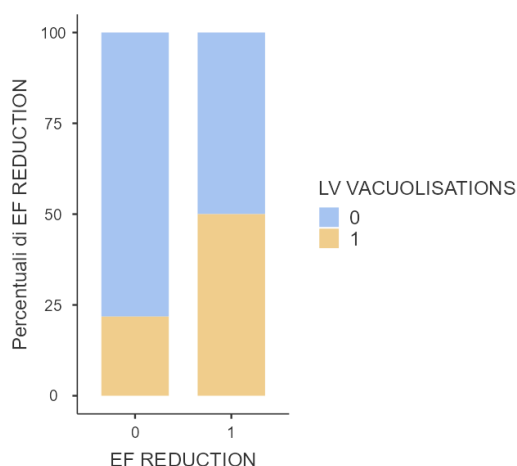


Figura 16: correlazione tra riduzione della FE dimostrata ecocardiograficamente e vacuolizzazioni dimostrate istologicamente.

### Dilatazione del VS dimostrata ecocardiograficamente e vacuolizzazioni

Le vacuolizzazioni dimostrate istologicamente sono più presenti nei pazienti con dilatazione del VS rispetto a quelli senza la presenza delle alterazioni ecocardiografiche (odds ratio 2,32 [95% interval 1,04-5,19]), la p è 0,038.

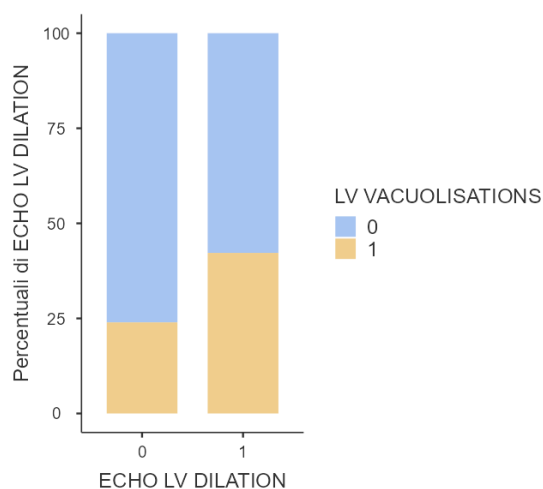


Figura 17: correlazione tra dilatazione del VS dimostrata ecocardiograficamente e vacuolizzazioni dimostrate istologicamente.

### Episodi di TV o FV e vacuolizzazioni

Le vacuolizzazioni dimostrate istologicamente sono più presenti nei pazienti con episodi di TV o FV rispetto a quelli senza la presenza di episodi di aritmie maligne ventricolari (odds ratio 2,65 [95% interval 1,18-5,99]), la p è 0,017.

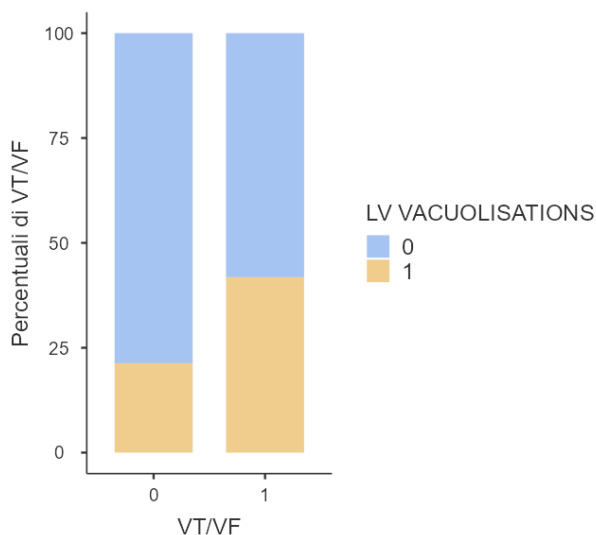


Figura 18: correlazione tra episodi di TV o FV e vacuolizzazioni dimostrate istologicamente.

### BEV >500 all'Holter ECG e ispessimento endocardico

L'ispessimento endocardico dimostrato istologicamente è più presente nei pazienti con episodi di BEV>500/24 ore all'Holter ECG rispetto a quelli senza la presenza delle alterazioni holter (odds ratio 2,95 [95% interval 0,985-8,85]), la p è 0,047.

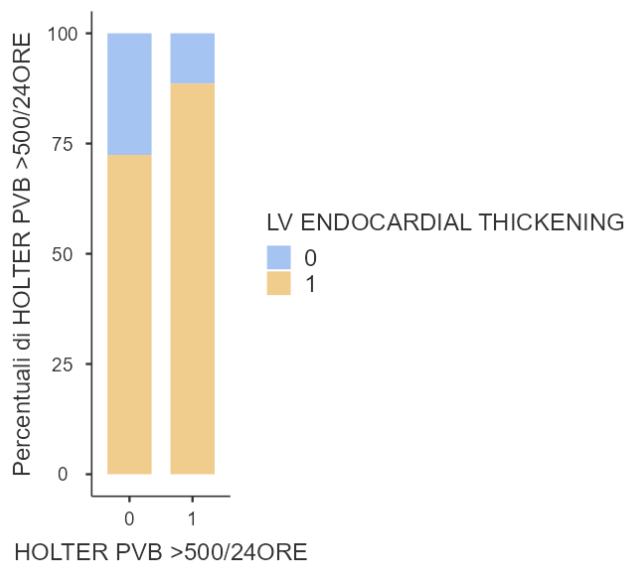


Figura 19: correlazione tra presenza di più di 500 BEV nelle 24 ore all'Holter ECG e ispessimento endocardico dimostrato istologicamente.

### EVM positivo e ispessimento endocardico

L'ispessimento endocardico dimostrato istologicamente è più presente nei pazienti con EVM positivo rispetto a quelli senza la presenza delle alterazioni allo EVM. (odds ratio 5,94 [95% interval 2,00-17,6]), la p è <0.001.

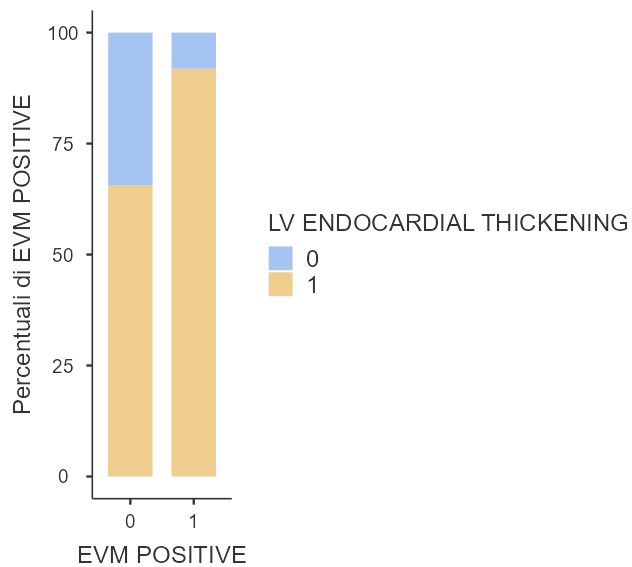


Figura 20: correlazione tra EVM positivo e ispessimento endocardico dimostrato istologicamente.

Per meglio indagare questa correlazione è stata anche valutata la correlazione tra ispessimento endocardico e positività al EVM unipolare (indaga anche la parte subepicardica del muscolo cardiaco) e bipolare (indaga la parte subendocardica).

### **EVM unipolare positivo e ispessimento endocardico**

L'ispessimento endocardico dimostrato istologicamente è più presente nei pazienti con EVM unipolare positivo (odds ratio 6,40 [95%interval 1,94-21,2],  $p < 0,001$ ).

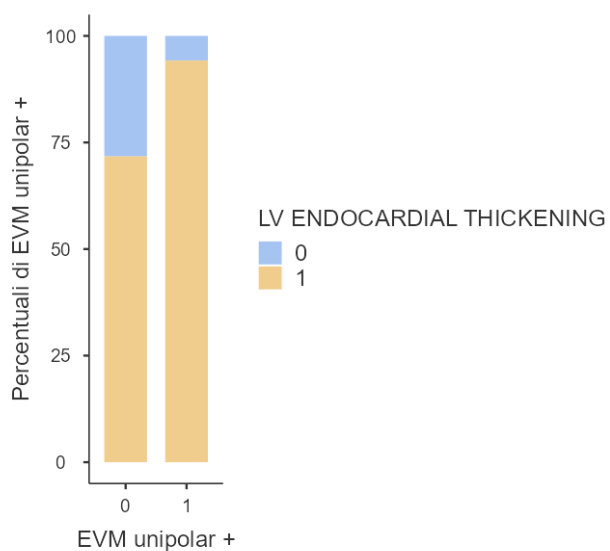


Figura 21: correlazione tra EVM unipolare positivo e ispessimento endocardico dimostrato istologicamente.

### **EVM bipolare positivo e ispessimento endocardico**

L'ispessimento endocardico dimostrato istologicamente è più presente nei pazienti con EVM bipolare positivo (odds ratio 3,30 [95%interval 1,12-9,69],  $p = 0,024$ ).

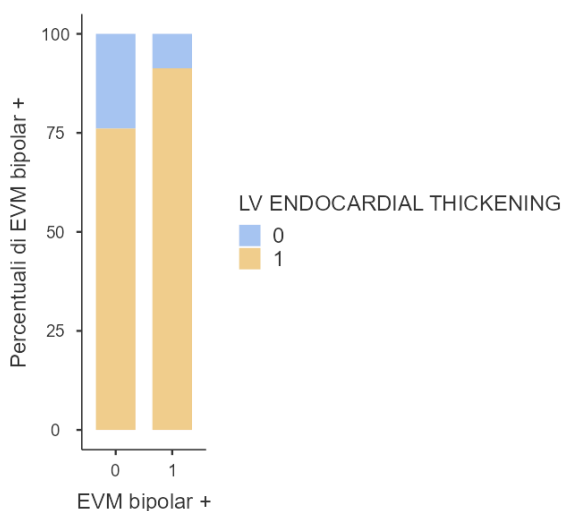


Figura 22: correlazione tra EVM bipolare positivo e ispessimento endocardico dimostrato istologicamente.

### EVM unipolare/bipolare positivo e ispessimento endocardico

Per indagare ulteriormente la correlazione sono stati indagati i pazienti che presentassero solo uno EVM positivo unipolare o solo uno EVM positivo bipolare per confrontarli con l'ispessimento endocardico. L'ispessimento endocardico è più presente nei campioni con EVM unipolare positivo (odds ratio 5,37 [95% interval 0,236-122],  $p=0,157$ ) rispetto al corrispondente bipolare. A causa della scarsa numerosità l'analisi però non è statisticamente significativa.

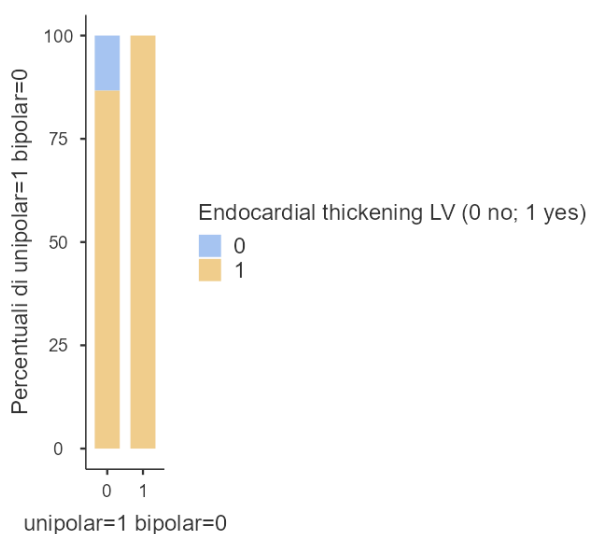


Figura 23: Correlazione tra EVM unipolare o bipolare positivo e ispessimento endocardico dimostrato istologicamente.

È importante anche fare una menzione dei casi in cui una alterazione poteva essere prevista, anche in relazione alla letteratura sopra esposta ma nei nostri dati non è risultata presente e significativa, in particolare per quanto riguarda la presenza di fibrosi e la presenza di LGE alla CMR e alla positività dello EVM.

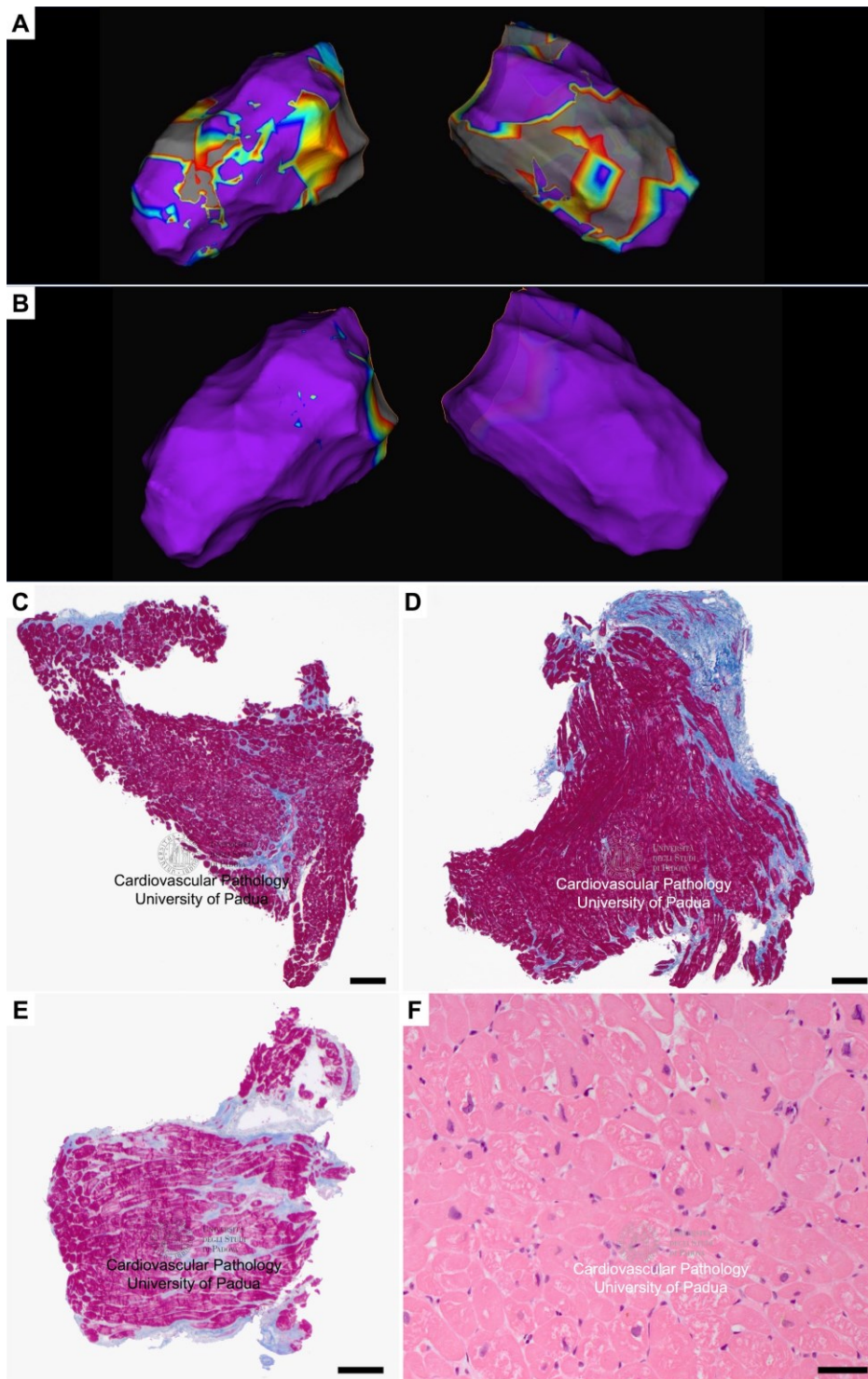


Figura 24: Correlazione tra EVM e BEM VS in paziente con sospetto clinico di cardiomiopatia dilatativa. A) L'EVM bipolare con proiezioni obliqua laterale sinistra e obliqua laterale destra che evidenziano area di bassi potenziali (colore grigio) potenziali a livello dell'apice ventricolare sinistro e a livello della porzione basale anteriore del setto interventricolare. B) L'EVM unipolare non presenta alterazioni. C-E) I tre frammenti in visione panoramica mostrano ispessimento endocardico minima fibrosi sostitutiva. F) I cardiomiociti presentano alterazioni cardiomiopatiche comprensive di aloni perinucleari, compatibili con diagnosi di cardiomiopatia dilatativa. C-E) Colorazione tricromica di Heidenhain. F) Colorazione ematossilina-eosina. Barre C-E 200  $\mu\text{m}$ , F 50  $\mu\text{m}$ .



## LGE positivo e fibrosi

Nei casi con fibrosi non c'è correlazione significativa con la presenza o meno di gadolinio positivo alla CMR. In particolare, nei casi con gadolinio negativo, 7 (6,3%), i casi con fibrosi sono 4 (57,1%). D'altra parte, nei casi con gadolinio positivo le BEM con fibrosi sono 68 (65,4%).

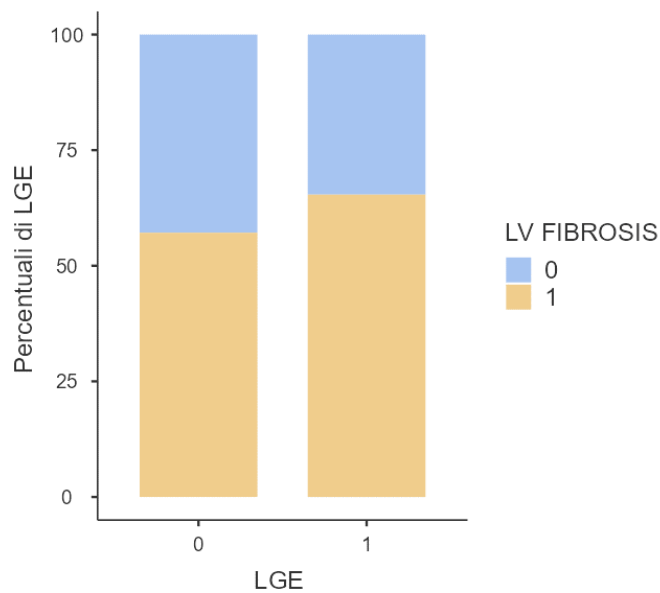


Figura 25: mancata correlazione significativa tra LGE+ alla CMR e fibrosi dimostrata istologicamente.

La correlazione non è significativamente presente neanche differenziando la localizzazione subendocardica, transmurale e subepicardica.

Nel caso della localizzazione subendocardica la fibrosi è lievemente più presente rispetto agli altri ma senza un rapporto statisticamente valido (odds ratio 1,44 [95% interval 0,461-4,51] p=0,528).

Nel caso della localizzazione transmurale la fibrosi è lievemente meno presente ma senza un rapporto statisticamente valido (odds ratio 0,632 [95% interval 0,128-3,12] p=0,571).

Nel caso della localizzazione subepicardica la fibrosi è lievemente meno presente ma senza un rapporto statisticamente valido (odds ratio 0,825 [95% interval 0,258-2,37]  $p=0,712$ ).

### LGE+ e percentuale di fibrosi/fibroadiposi

Per studiare il confronto tra fibrosi/fibroadiposi e localizzazione del LGE si possono confrontare le medie delle percentuali di fibrosi nei vari pazienti con la localizzazione del LGE alla CMR.

In particolare, se il LGE è subendocardico risulta che la percentuale media di fibrosi è maggiore (15,4% e 13,6% rispettivamente) nei pazienti con LGE subendocardico rispetto a quelli con LGE in altre localizzazioni, anche se non significativa ( $p=0,682$ ).

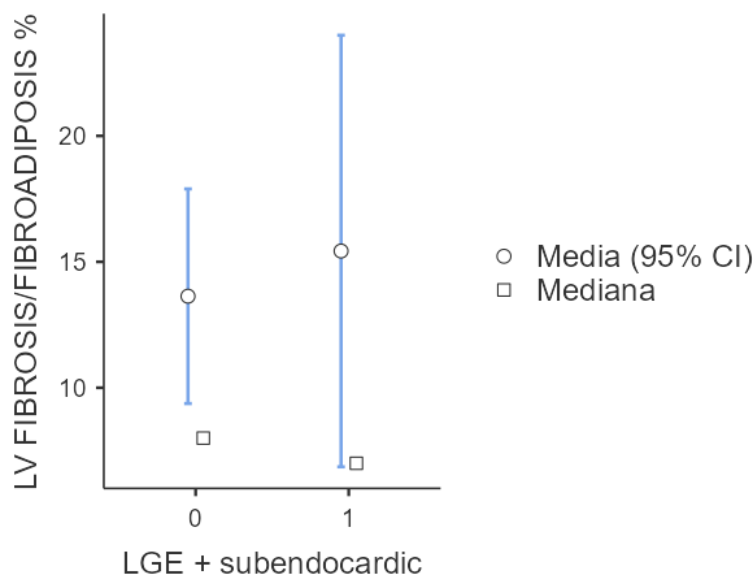


Figura 26: confronto tra la percentuale di fibrosi in pazienti con presenza di LGE subendocardico e non.

In particolare, se il LGE è transmurale risulta che la percentuale media di fibrosi è maggiore in maniera statisticamente significativa (26,7% e 12,5% rispettivamente) nei pazienti con LGE transmurale rispetto a quelli con LGE in altre localizzazioni ( $p=0,026$ ).

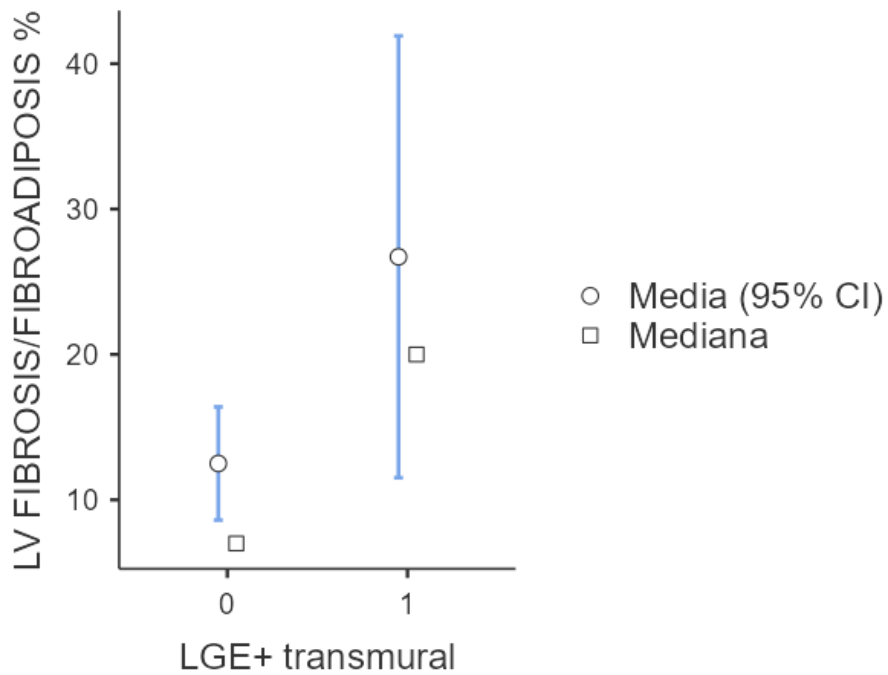


Figura 27: confronto tra la percentuale di fibrosi e la presenza di LGE transmurale e non.

In particolare, se il LGE è subepicardico risulta che la percentuale media di fibrosi è minore (10,9% e 17,8% rispettivamente) rispetto a quelli con LGE in altre localizzazioni, anche se non in maniera statisticamente significativa ( $p=0,093$ )

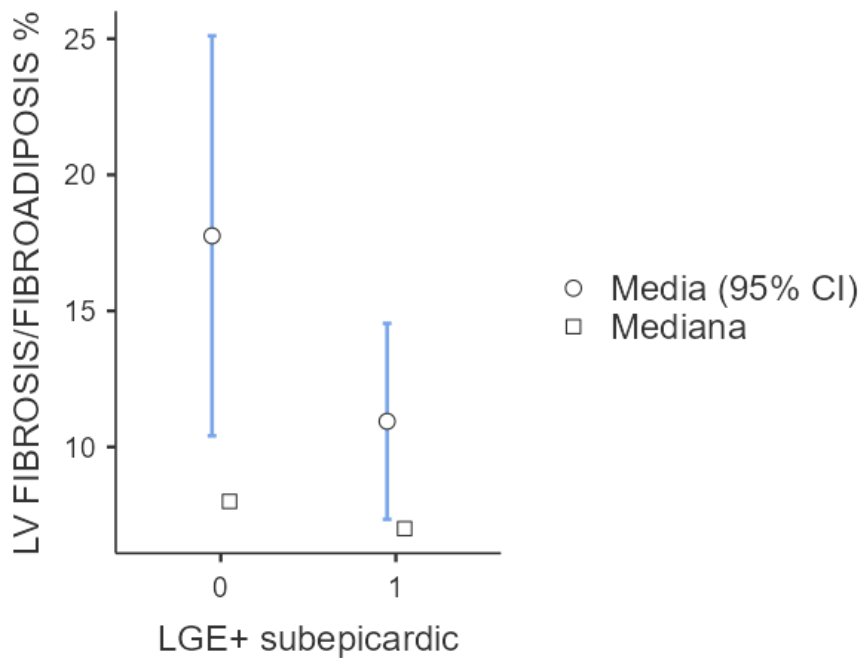


Figura 28: correlazione tra la percentuale di fibrosi e la presenza di LGE subepicardico e non.

## EVM positivo e fibrosi

Nei casi con fibrosi istologica e EVM positivo non c'è correlazione significativa. I casi con fibrosi e studio negativo sono 16 (55,2%), i casi con fibrosi e EVM positivo sono 59 (68,6%), l'odds ratio calcolato è 1,78 [95% interval 0,75-4,20] ma la significatività è bassa con p value di 0,189.

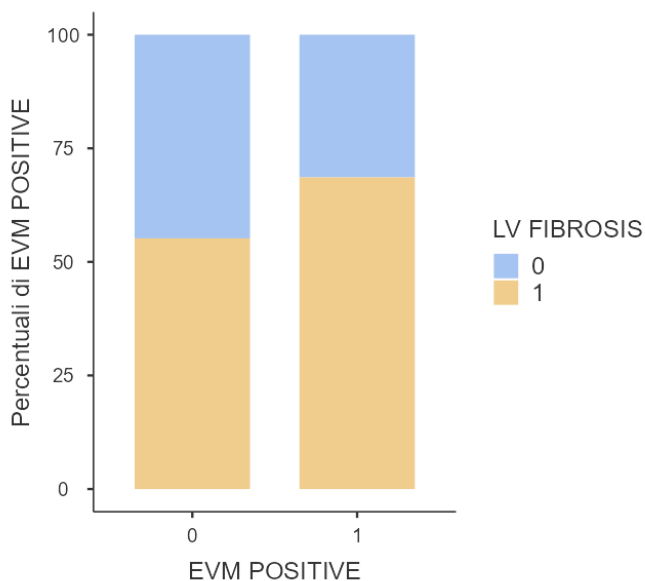


Figura 29: mancata correlazione significativa tra EVM positivo e fibrosi dimostrata istologicamente

Anche in questo caso si può analizzare se la percentuale di fibrosi sia maggiore nei casi di positività allo EVM unipolare o bipolare.

Nel caso dello EVM bipolare risulta che la media della percentuale di sostituzione fibrosa o fibroadiposa è maggiore nei pazienti con EVM bipolare positivo rispetto al resto (12,8% vs 9,74% rispettivamente,  $p=0,258$  non significativo).

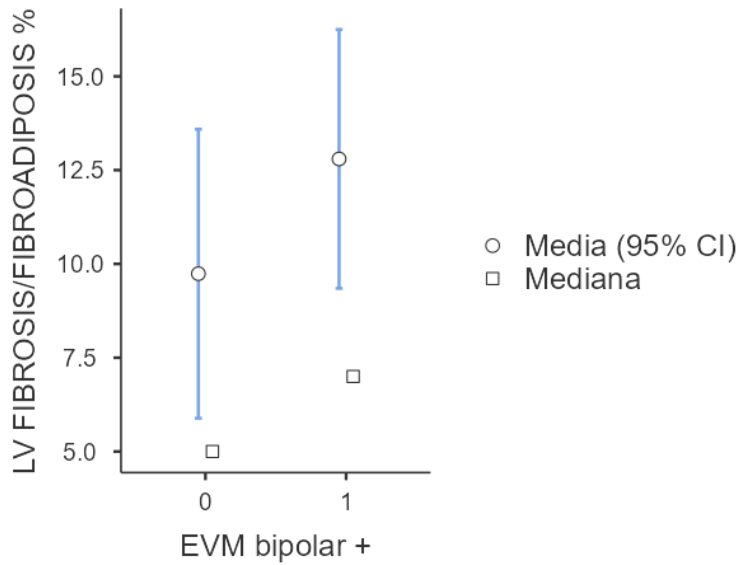


Figura 30: confronto tra la fibrosi/fibroadiposi percentuale e presenza di EVM bipolare positivo

Nel caso dello EVM unipolare risulta che la media della percentuale di sostituzione fibrosa o fibroadiposa è maggiore nei pazienti con EVM unipolare positivo rispetto al resto (13,8% vs 8,3% rispettivamente,  $p=0,048$  statisticamente significativo).

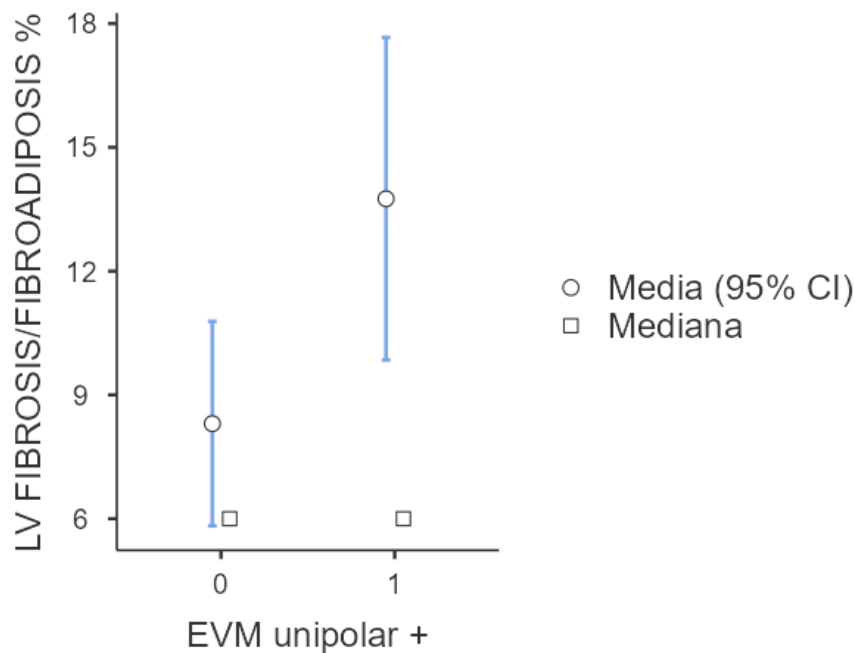


Figura 31: confronto tra fibrosi/fibroadiposi percentuale e presenza di EVM unipolare positivo

Il confronto tra EVM unipolare e bipolare e la percentuale di fibrosi mostra che, nel numero limitato di pazienti con solamente EVM unipolare o bipolare positivo, la percentuale media di fibrosi nei pazienti con EVM unipolare positivo è maggiore

rispetto a quelli con EVM bipolare positivo (9,43% vs 7,73% rispettivamente, p=0,702 non significativo).

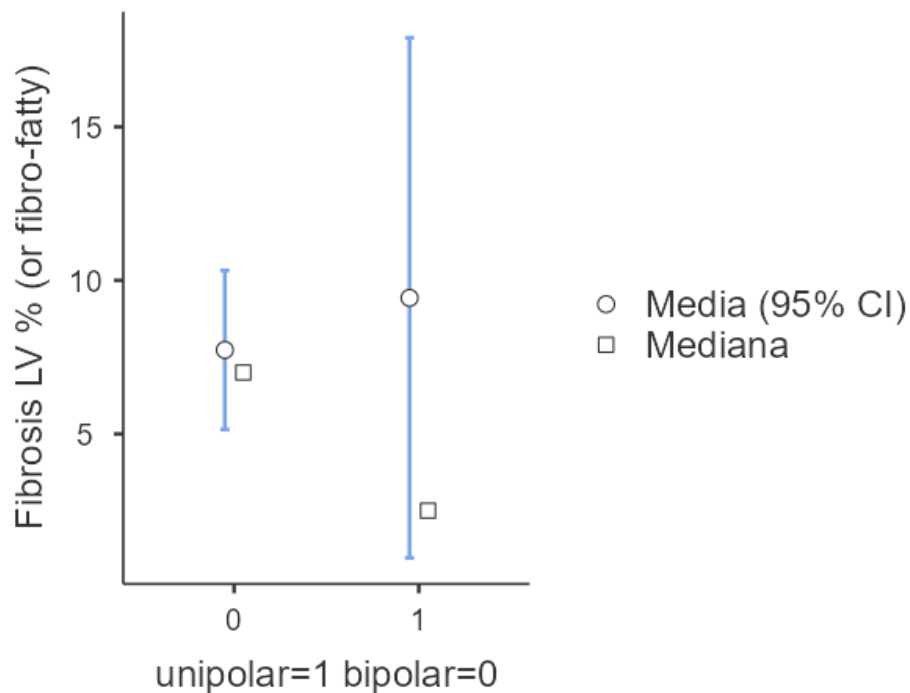


Figura 32: confronto tra fibrosi/fibroadiposi percentuale e presenza di EVM unipolare o bipolare positivo.

### 3.4 Analisi di quattro sottopopolazioni particolari

Dal database abbiamo poi estratto quattro subset di pazienti su cui fare una ulteriore indagine statistica per individuare delle correlazioni tra i dati clinici e istologici. Le quattro popolazioni sono i pazienti con prolasso mitralico, i pazienti con miocardite istologicamente accertata, i pazienti con sospetta cardiomiopatia aritmogena e i pazienti con sospetta cardiomiopatia dilatativa.

#### 3.4.1 Pazienti con miocardite istologicamente accertata

I pazienti con diagnosi di miocardite istologicamente accertata sono 4 e sono i pazienti con infiammazione ( $CD3+ > 7/mm^2$ ) e necrosi. Le prevalenze di ciascuna delle condizioni sono riportate in tabella 6. Trattandosi solo di 4 pazienti nessuna delle relazioni che si ritrovano è statisticamente significativa.

Pazienti con miocardite istologica, N

4

Sesso M, N (%)

2 (50%)

|   |         |
|---|---------|
| Atleti agonisti, N (%)  | 1 (25%) |
| Dolore toracico, N (%)  | 3 (75%) |
| Anamnesi positiva per morte improvvisa e dolore toracico, N (%) | 1 (25%) |
| Bassi voltaggi ECG, N (%)                                       | 1 (25%) |
| Onde T invertite ECG VS, N (%)                                  | 2 (50%) |
| Alterazioni ripolarizzazioni ECG, N (%)                         | 2 (50%) |
| >500 BEV/24 ore all'Holter ECG, N (%)                           | 1 (25%) |
| Riduzione FE, N (%)   | 1 (25%) |
| Dilatazione VS, N (%)   | 1 (25%) |
| LGE positivo, N (%)   | 3 (75%) |
| EVM positivo, N (%)   | 2 (50%) |

Tabella VI: tabella di analisi della popolazione dei pazienti con miocardite istologicamente accertata.

### 3.4.2 Pazienti con prolasso valvolare mitralico

Analizzando i campioni e i referti è risultato che alcuni pazienti erano arrivati all'attenzione dei centri cardiologici con aritmie e prolasso mitralico e abbiamo deciso di creare una sottopopolazione per analizzare le correlazioni anatomo-cliniche nei pazienti. Anche in questo caso si tratta di una popolazione limitata (6 pazienti) per cui le relazioni risultano non significative. In tabella 7 sono riportate le analisi delle prevalenze. Le particolarità da segnalare risultano che il 100% dei pazienti presenta presenza di più di 500 BEV nelle 24 ore all'Holter ECG. 5 pazienti presentavano poi alterazioni alla CMR e allo EVM. La riduzione della FE e la dilatazione del VS sono presenti solo in uno e due pazienti, rispettivamente.

|   |           |
|---|-----------|
| Pazienti con prolasso valvolare mitralico, N                    | 6         |
| Sesso M, N (%)  | 3 (50%)   |
| Atleti agonisti, N (%)  | 2 (33,3%) |
| Dolore toracico, N (%)  | 1 (16,7%) |
| Anamnesi positiva per morte improvvisa e dolore toracico, N (%) | 1 (16,7%) |

|   |           |
|---|-----------|
| Onde T invertite ECG VS, N (%)          | 3 (50%)   |
| Alterazioni ripolarizzazioni ECG, N (%) | 4 (66,7%) |
| Episodi di TV o FV, N (%)               | 3 (50%)   |
| >500 BEV/24 ore all'Holter ECG, N (%)   | 6 (100%)  |
| Riduzione FE, N (%)                     | 1 (16,7%) |
| Dilatazione VS, N (%)                   | 2 (33,3%) |
| LGE positivo, N (%)                     | 5 (83,3%) |
| EVM positivo, N (%)                     | 5 (83,3%) |

*Tabella VII: tabella analisi della popolazione in pazienti con prolasso valvolare mitralico*

### **3.4.3 Pazienti con sospetta cardiomiopatia aritmogena**

Nella revisione della letteratura presente sulla BEM del VS si nota come ci sia particolare attenzione nei pazienti con ACM e DCM per cui sono state analizzate le due sottopopolazioni. In particolare, nell'analisi delle caratteristiche dei miociti si nota come il diametro medio dei miociti nei pazienti con sospetta ACM (21,7 micron) sia maggiore della dimensione media dei miociti della popolazione di studio (20,9 micron). La percentuale di fibrosi inoltre è maggiore nei pazienti con sospetta ACM (14,3%) rispetto alla popolazione generale (11,5%).

Confrontando le medie con la t di Student risulta che le relazioni di differenza tra diametro dei cardiomiociti e fibrosi rispetto alla popolazione senza la sospetta patologia non sono statisticamente significative, come dimostrato dal grafico e tabella sotto riportati.



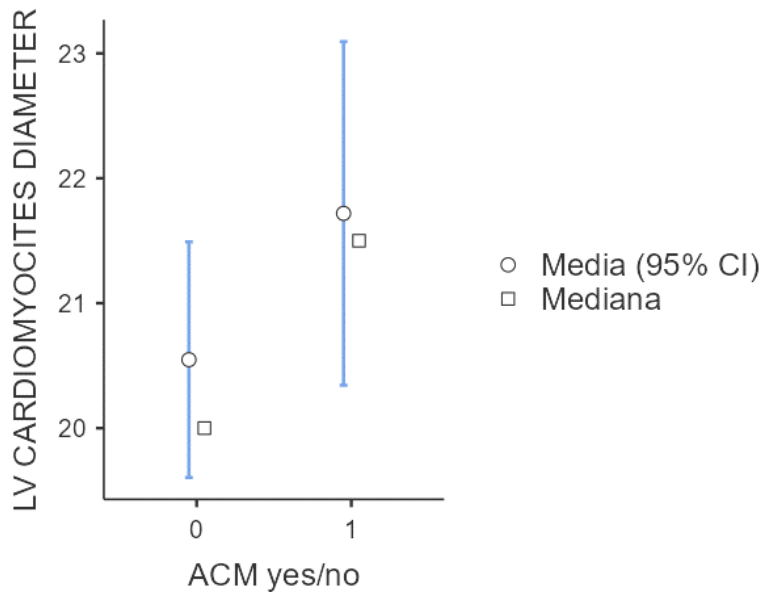


Figura 33: grafico confronto tra i diametri medi dei cardiomiociti nei pazienti con sospetta cardiomiopatia aritmogena (1) e con altri sospetti diagnostici (0), il diametro è espresso in micron.

#### 3.4.4 Sottopopolazione di pazienti con sospetta cardiomiopatia dilatativa

Anche in questa sottopopolazione si nota come il diametro medio dei cardiomiociti nei pazienti con sospetta DCM (22,9 micron) sia maggiore sia dei pazienti con sospetta ACM (21,7 micron) sia della dimensione media dei cardiomiociti della popolazione di studio senza sospetta DCM (20,3 micron). La percentuale di fibrosi inoltre è maggiore nei pazienti con sospetta DCM (15,5%) sia rispetto ai pazienti con sospetta ACM (14,3%) sia rispetto alla popolazione generale senza sospetta DCM (10,5%).

Confrontando le medie con la t di Student risulta che la relazione tra il maggior diametro nei pazienti con sospetta DCM e in quelli senza è statisticamente significativo ( $p=0,008$ ) mentre la differenza con la percentuale di fibrosi risulta non statisticamente significativa ( $p=0,120$ ) (vedi tabella e figura sotto).

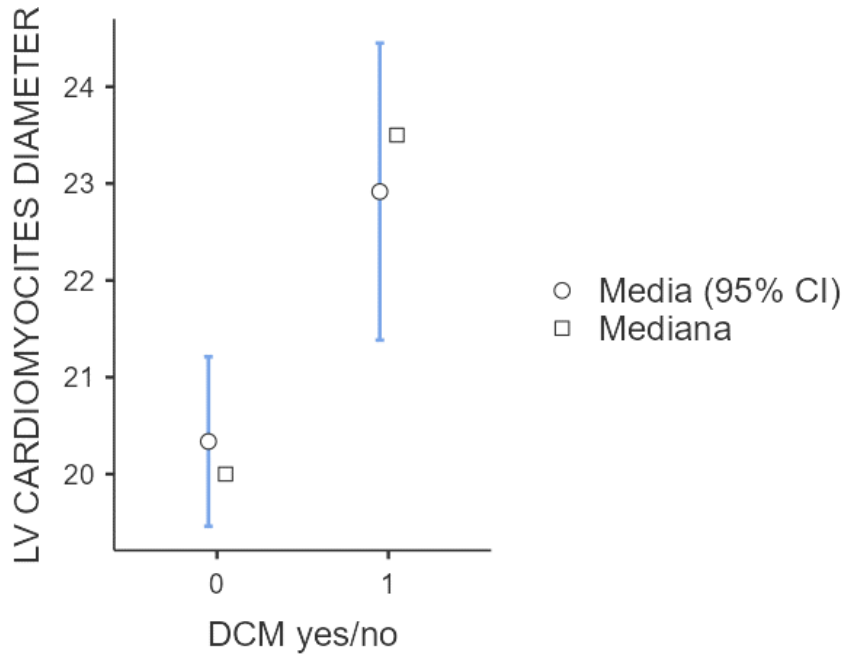


Figura 34: grafico confronto tra i diametri medi dei cardiomiociti nei pazienti con sospetta cardiomiopatia dilatativa (1) e con altri sospetti diagnostici (0), il diametro è espresso in micron.

Confrontando con la t di Student le medie dei diametri dei cardiomiociti e della percentuale di fibrosi tra i pazienti con sospetta DCM e ACM risulta che il rapporto non è statisticamente significativo (p value per il valore dei diametri 0,2, p value per la percentuale di fibrosi 0,78), come si vede dal grafico sotto riportato.

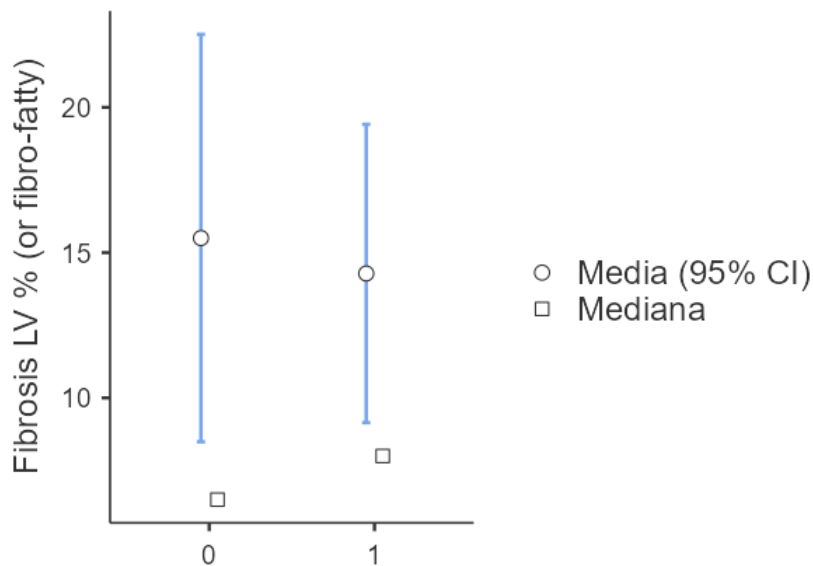


Figura 35: grafico confronto tra i diametri medi dei cardiomiociti nei pazienti con sospetta cardiomiopatia aritmogena (1) e con sospetta cardiomiopatia dilatativa (0), il diametro è espresso in micron.

## Capitolo 4 – Discussione

### 4.1 Valutazioni generali e correlazione tra diagnosi clinica e alterazioni anatomico-patologiche

La prima parte dello studio è centrata sull'analisi delle relazioni tra il sospetto diagnostico dei Colleghi dei centri cardiologici di provenienza dei campioni e le alterazioni istologiche risultanti dall'analisi dei campioni nel nostro centro. Dai risultati riportati nella sezione precedente risulta chiaro che, ad esclusione dell'infiammazione con necrosi e dell'infiammazione senza necrosi che si associano a una diagnosi clinica di miocardite, le altre alterazioni istologiche sono più aspecifiche. In particolare, analizzando i valori per ciascuna categoria diagnostica clinica:

- Nel caso di sospetta miocardite clinica le alterazioni cardiomiopatiche e la fibrosi erano presenti solamente in circa la metà dei casi, la fibroadiposi nel 12,5%, le vacuolizzazioni nel 30% dei campioni;
- Nei casi di cicatrice sinistra isolata alla CMR la situazione è simile a quella della sospetta miocardite, con una prevalenza leggermente maggiore di fibrosi e alterazioni cardiomiopatiche nei casi studiati;
- Nei casi di sospetta ACM la fibrosi e le alterazioni cardiomiopatiche sono più prevalenti rispetto alle due condizioni indagate sopra. In particolare, le alterazioni cardiomiopatiche sono presenti nel 72% dei casi e la fibrosi nel 75%. Le vacuolizzazioni e la fibroadiposi sono relativamente poco prevalenti.
- Nei casi di sospetta DCM si trova la più alta prevalenza di fibrosi (79%), alterazioni cardiomiopatiche (83%) e vacuolizzazioni (53%).

Le alterazioni che risultano irreversibili sono le alterazioni cardiomiopatiche, la fibrosi e la sostituzione fibroadiposa. Le alterazioni della miocardite sono solitamente reversibili e quindi i risultati ottenuti dal nostro studio sono realistici nel rapporto tra la patologia e la clinica. Come descritto da Bergonti et al. (101) e da Corrado et al. (102) la miocardite si associa, a differenza della ACM, a minore scar all'EVM e a una maggior presenza di edema alla CMR. Questo elemento potrebbe

contribuire a spiegare come la presenza di fibrosi nei casi di miocardite sia percentualmente minore rispetto alle altre diagnosi cliniche, in particolare rispetto ai casi di sospetta ACM in cui le alterazioni irreversibili sono più presenti.

Nel nostro studio inoltre si conferma che la dimensione media dei cardiomiociti nei pazienti con sospetta diagnosi clinica di DCM sia maggiore rispetto alla dimensione media dei cardiomiociti nei pazienti con altre diagnosi(85). Mentre questa relazione risulta essere statisticamente significativa, la relazione con maggiore fibrosi e con un maggiore diametro cardiomiocitario medio relativamente ai pazienti con sospetta ACM risulta presente ma non statisticamente significativa.

Un'altra valutazione è sull'efficacia della BEM biventricolare nella contribuzione al processo diagnostico, pur tenendo presente il limitato numero di casi studiati. In solo 4 casi su 25 (16%) la BEM del VD contribuiva con più informazioni diagnostiche rispetto alla BEM del VS. In tutti gli altri 21 casi la BEM del VS forniva più informazioni diagnostiche e dimostrava più alterazioni rispetto a quella eseguita nel VD.

#### **4.2 Correlazioni tra presenza di alterazioni istologiche e clinica**

Dall'analisi dei rapporti di correlazione si evincono alcune correlazioni significative tra la clinica e l'analisi istologica. È da notare come alcune delle alterazioni che potevano essere sospettabili non risultino presenti o significative nell'analisi, come la correlazione tra la fibrosi alla BEM e la positività di LGE alla CMR o lo EVM positivo. Questo può essere attribuibile a diversi fattori, tra cui il *sampling error*, che rimane una problematica notevole della BEM, e nel caso specifico anche dovuta al fatto che, nella maggior parte dei casi, la sede del LGE sia subepicardica, e quindi non raggiungibile mediante BEM con biotomo transarterioso. In altre parole, la sede di prelievo non sarebbe rappresentativa della lesione riscontrata con l'imaging. Questo può anche dare ragione del motivo per cui la BEM del VS guidata da CMR e EVM non sia maggiormente diagnostica. Per meglio analizzare il rapporto tra queste relazioni abbiamo indagato se la presenza di fibrosi si correli o meno con la localizzazione subendocardica, transmurale o subepicardica del LGE.

Dalle analisi è risultato che la fibrosi è più prevalente nei casi di localizzazione subendocardica rispetto ai corrispettivi transmurali e subepicardici (anche se non statisticamente significativa). Analizzando la percentuale di fibrosi rilevata si nota che questa è maggiore nei casi di LGE transmurali (statisticamente significativo) e subendocardica (non statisticamente significativo) rispetto ai pazienti in cui l'LGE è subepicardico. La percentuale di fibrosi è anche maggiore nei pazienti con EVM unipolare positivo rispetto sia alla popolazione generale (statisticamente significativo) che rispetto allo EVM bipolare positivo (non statisticamente significativo).

Le relazioni che sono presenti legano in particolare la fibrosi, la fibroadiposi, le alterazioni cardiomiopatiche e le vacuolizzazioni. La probabilità di presenza di fibrosi alla BEM è significativamente più alta nei pazienti che presentino alterazioni sia della funzione di pompa (dilatazione del VS) che della conduzione elettrica (alterazioni della ripolarizzazione all'ECG). Sebbene la percentuale di fibrosi e fibroadiposi riscontrata nei campioni sia percentualmente bassa (solo 6 (5,2%) pazienti presentano una fibrosi  $\geq 50\%$  all'istologia), la correlazione si può spiegare con il fatto che il prelievo venga effettuato nella zona subendocardica, dove nonostante l'assenza di lesione evidenziabile dalla CMR (la cui risoluzione consigliata è  $< 2\text{mm}$  dall'ESC(103) e standard se  $1.8 \times 1.8 \times 8\text{mm}$  (104)) è comunque presente una malattia miocardica istologicamente evidente. La fibroadiposi invece, correla con la presenza di aritmie maligne ventricolari, in particolare FV e TV. L'associazione tra presenza di fibroadiposi e potenziale aritmogenico è nota, tanto che è stato dimostrato che la sostituzione fibroadiposa è alla base del processo fisiopatologico che caratterizza la ACM (105). Le alterazioni cardiomiopatiche e le vacuolizzazioni, caratteristiche di varie patologie tra cui la DCM (106), ma non specifiche di quest'ultima, correlano nel nostro studio in modo statisticamente significativo con la riduzione della FE e la dilatazione del VS. Le alterazioni cardiomiopatiche correlano anche con disturbi del sistema di conduzione del cuore, in particolare con episodi di aritmia ventricolare maligna e le alterazioni cardiomiopatiche con uno EVM positivo.

Una trattazione a parte merita l'ispessimento endocardico, che correla significativamente sia con la presenza di più di 500 BEV all'Holter nelle 24 ore sia con uno EVM positivo. Dall'analisi della letteratura non risultano altri lavori che indaghino la correlazione tra questi valori. Una possibile spiegazione della correlazione con la positività dello EVM è una positività dell'indagine bipolare che indaga la parte più interna della parete e una possibile mancata correlazione con la positività unipolare che indaga l'epicardio e la regione intramiocardico(107). Abbiamo quindi valutato se l'ispessimento endocardico si correlasse specificatamente con una delle due indagini elettrofisiologiche. Valutando i pazienti nel loro complesso (con solo unipolare positivo, solo bipolare positivo ed entrambi positivi) la correlazione esiste ed è significativa con ciascuna delle due analisi ma molto più con l'analisi unipolare (odds ratio 6,4 unipolare contro 3,3 per il bipolare). Per meglio valutare il confronto abbiamo effettuato un confronto tra quei pazienti che presentassero solamente un'analisi unipolare positiva o bipolare positiva. Anche in questo caso nei pazienti con un'analisi unipolare positiva risulta più prevalente l'ispessimento endocardico (odds ratio 5,37 p value= 0,157). Ulteriori studi sono necessari per indagare la correlazione di tali reperti e l'eventuale significato clinico.

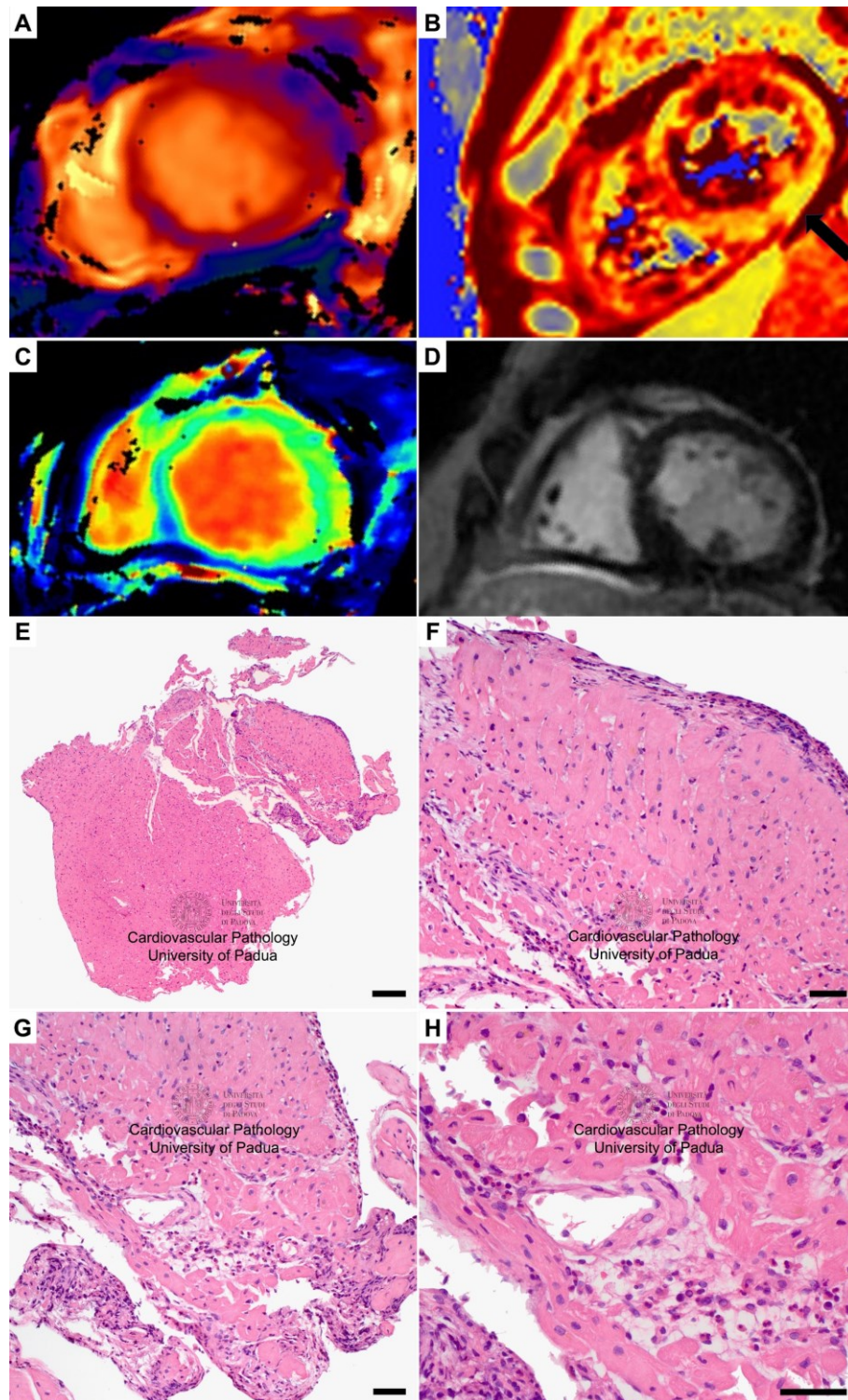
#### **4.3      Analisi di quattro case study**

All'interno dell'analisi dei casi per la realizzazione dello studio abbiamo rilevato la presenza di alcune sottopopolazioni di particolare interesse clinico per meglio rappresentare l'importanza della BEM nello studio di alcune patologie.

#### **4.3.1 La miocardite eosinofila**

Il caso studio riguarda una paziente di 68 anni con eosinofilia nota da 8 anni ed asma bronchiale. In anamnesi patologica remota risulta un intervento di mastectomia radicale per neoplasia con conseguente RT adiuvante e in follow-up per una nodularità al polmone di ndd. Recente riscontro di FA non databile trattata con rate control, giunta all'attenzione medica per dispnea ingravescente (NYHA II-III) e ortopnea, senza dolore toracico. All'ECG risultava un emiblocco anteriore sinistro con onde T negative in sede laterale. All'ecocardiografia una severa disfunzione diastolica sinistra con FE del 40%. Si riscontrava inoltre un picco di troponina di 4000 ng/ml e una leucocitosi eosinofila (GB 13400 u/L e 47% eosinofili). Alla luce del sospetto di miocardite si decideva per ricovero in UTIC dove si riscontrava un versamento pleurico bilaterale e recidiva di FA. La CMR mostrava un VS di normali dimensioni e spessore con incremento del T1 apicale e settale e del T2 apicale, anteriore e settale, senza Enhancement contrastografico. All'esecuzione dello EVM risultava un EVM bipolare sano e unipolare con una piccola area infero laterale basale. Alla BEM del VS i miociti risultavano normali con un diametro medio di 12 micron e risultavano assenti sostituzione fibrosa o fibroadiposa. L'alterazione principale era la presenza di aree di infiammazione con necrosi con cluster di leucociti anche eosinofili, come evidenziato in figura.

Tale esempio rappresenta uno dei casi in cui la BEM è sufficiente e necessaria per la diagnosi, senza la necessità di correlazione con i dati clinici, in quanto il riscontro di infiammazione con necrosi è diagnostico di miocardite.



**Figura 36:** Correlazione tra CMR e BEM del VS di paziente con sospetto clinico di miocardite. A-C) Alle tecniche di CMR mapping in sezioni asse corto (A, T1 mapping, B, T2 mapping, C, extracellular volume – ECV) si ha evidenza di infiammazione acuta a livello della parete infero-laterale del ventricolo sinistro (freccia nera in B) e al setto anteriore. La negatività della ricerca di LGE (D) indica l'assenza di fibrosi. E) In visione panoramica si apprezza la presenza di cellule interstiziali nella porzione superiore del frammento. F-H) A maggiore ingrandimento, le cellule corrispondono a elementi flogistici con numerosi granulociti eosinofili associati a necrosi dei cardiomiociti, in assenza di fibrosi sostitutiva. La diagnosi finale risulta essere miocardite eosinofila acuta. E-H) Colorazione ematossilina-eosina. Barre E 200  $\mu$ m, G-H 50  $\mu$ m.

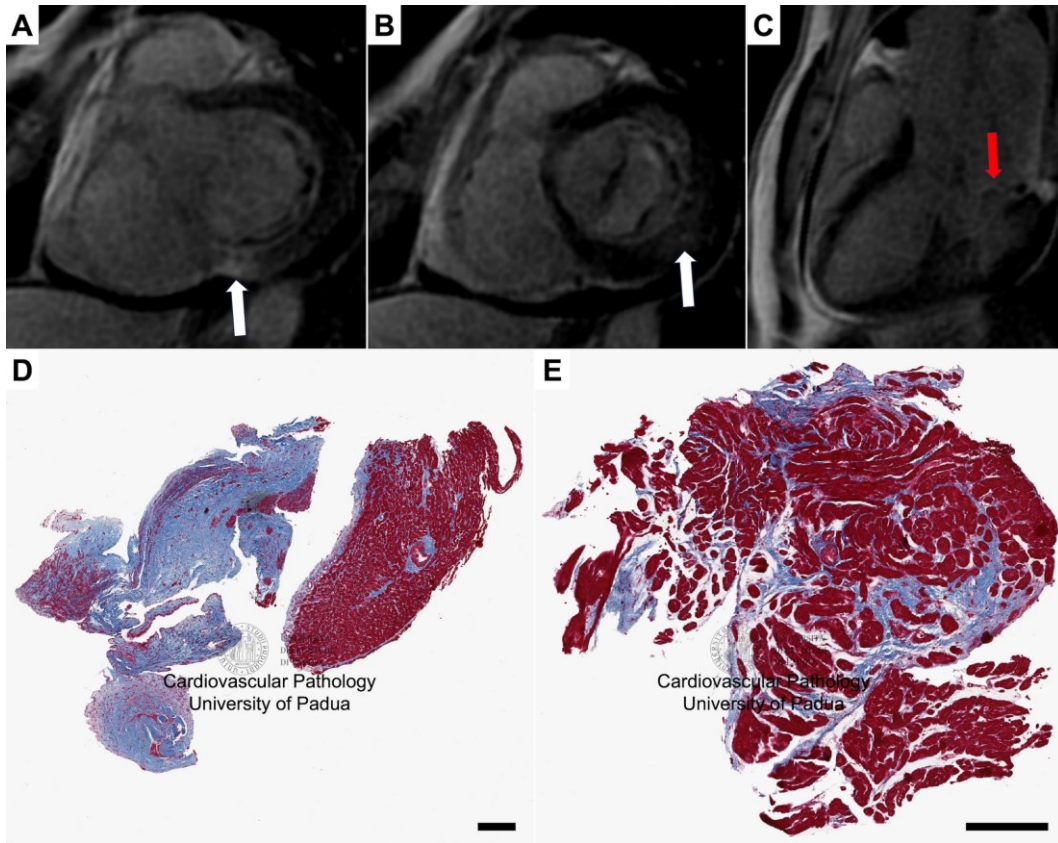


#### **4.3.2 Il prolasso valvolare mitralico aritmico**

Il prolasso valvolare mitralico è una valvulopatia relativamente frequente, con una prevalenza del 2-3% nella popolazione generale(108). Un sottogruppo di pazienti per lo più con prolasso bi-lembo è caratterizzato da un maggior rischio di aritmie e morte improvvisa, tanto da essere definito come prolasso valvolare mitralico aritmico(109). La fisiopatologia risiede probabilmente in una combinazione tra il substrato (ipertrofia e fibrosi regionale del miocardio, lesione alle fibre del Purkinje) e un trigger che elicitava BEV causati da una anomalia (“disjunction”) dell’anello valvolare mitralico(110).

Il caso studio riguarda una paziente di 52 anni con storia familiare di morte improvvisa e presenza di prolasso mitralico con lieve insufficienza. In terapia con sotalolo per toracoalgie. All’Holter ECG presenti 30518 BEV di cui 2229 coppie e 106 triplete. Alla CMR: VS moderatamente dilatato (VTDi 126 ml/mq), normale cinesia e funzione sistolica (FE 64%). Lieve rigurgito mitralico con presenza di multipli jet a tendenza al prolasso del lembo anteriore. Focale stria di LGE subepicardica a carico dei segmenti inferiore ed infero-laterale basali. EVM VS con aree di basso voltaggio (scar) coinvolgenti tutti i segmenti medio-basali alla mappa unipolare.

L’analisi istologica ha rilevato la presenza di fibrosi sostitutiva del 25% con ispessimento endocardico e presenza di alterazioni cardiomiopatiche e diametro medio dei miociti conservato (19 micron). La presenza della fibrosi localizzata (e la correlazione con le immagini CMR LGE suggerivano dei reperti compatibili con la sindrome del prolasso mitrale aritmico.



*Figura 37: Correlazione tra CMR e BEM del VS di paziente con evidenza clinica di prolasso mitralico e aritmie ventricolari. A, B) Alle sequenze post-contrasto in asse corto, una stria di LGE intramiocardico (frecche bianche) è riconoscibile a livello della parete infero-laterale del ventricolo sinistro, compatibile con fibrosi relativa al prolasso valvolare mitralico, visibile in C (freccia rossa). D) Nei frammenti della BEM (in particolare quello a sinistra) è evidente il marcato ispessimento endocardico. E) Un terzo frammento mostra fibrosi interstiziale e focalmente sostitutiva. D, E) Colorazione tricromica di Heidenhain. Barre 200  $\mu$ m.*

### 4.3.3 Un caso di MINOCA

La sindrome MINOCA o Infarto miocardico senza ostruzione coronarica significativa rappresenta un danno miocardico compatibile con la definizione universale di infarto miocardico a coronarie con stenosi <50%. La diagnosi combina la clinica suggestiva con l'assenza di lesioni significative alla diagnosi invasiva coronarografia. Nella sindrome MINOCA entrano diversi agenti causali tra cui la rottura di una placca, lo spasmo coronarico, la dissezione coronarica, il tromboembolismo coronarico, la cardiomiopatia di Tako-Tsubo e altre eziologie(111).

Il caso studio è una paziente di 51 anni, esordito 6 anni prima con dolore toracico atipico associato a BEV e TVNS. Sottoposta a coronarografia si rilevava l'assenza di stenosi, mentre alla CMR si evidenziava LGE VS subepicardico anteriore, anterolaterale medio, del setto e apice inferiore, pattern transmurale a livello inferiore medio con coinvolgimento parziale del papillare posteromediale, a livello del VD ipocinesia dei segmenti apicali. Un anno prima della BEM, in concomitanza di un nuovo episodio di dolore toracico si documentava un picco di troponina I ad alta sensibilità di 26482 pg/ml, e una ipocinesia mediobasale inferiore all'Ecocardiografia TT con una FE del 45%. All'esecuzione dell'Holter ECG venivano rilevate aritmie ipercinetiche ventricolari. La paziente riceveva quindi indicazione a BEM BIV e EVM che risultava positivo.

All'istologia i campioni del VS presentavano ispessimento endocardico e focale fibrosi sostitutiva (5%) con cardiomiociti normali con diametro medio 13 micron. La BEM del VD (setto) presentava ispessimento endocardico e fibrosi sostituiva estesa (circa 45%) e si segnalavano inoltre aree di neoangiogenesi, tipica della cardiopatia ischemica.

La convergenza tra i dati clinici e la fibrosi estesa, soprattutto sul versante destro del setto, e la neoangiogenesi tipica dell'ischemia confermano la diagnosi di MINOCA e l'eziologia ischemica delle lesioni esaminate, nonostante l'atipica localizzazione di alcune lesioni rilevate alla CMR.

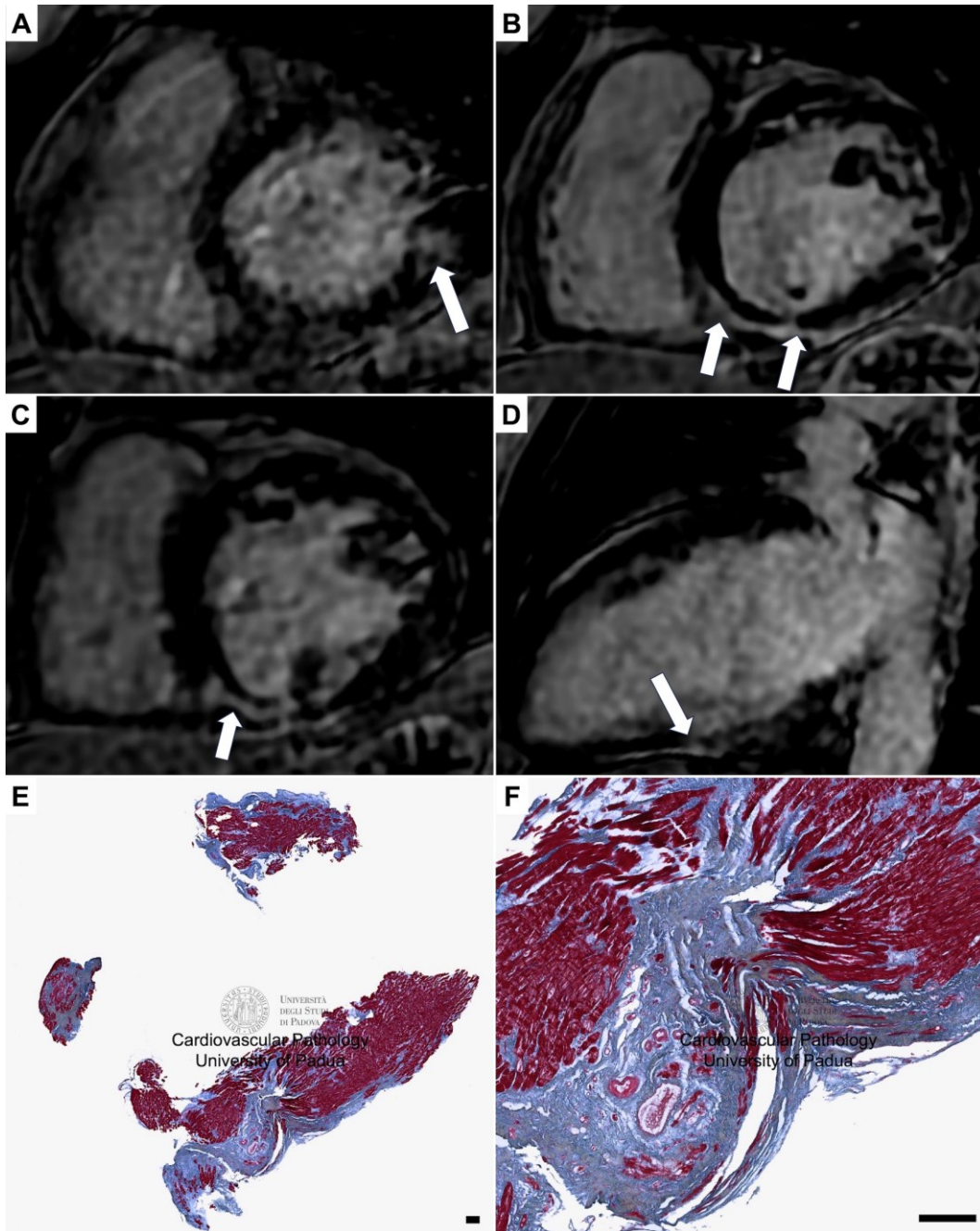


Figura 38: Correlazione tra CMR e BEM del VS di paziente con sospetto clinico di miocardite o MINOCA (myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries, infarto miocardico senza ostruzione coronarica significativa). A-E) Alle sequenze post-contrasto di CMR (A-D, sezioni asse corto, E, sezione asse lungo), una stria di LGE intramurale (frecche bianche) è evidente a livello delle pareti settale e inferiore del ventricolo sinistro (con pattern "ring-like"), compatibile con fibrosi miocardica a pattern non-ischemico. E) Visione panoramica dei tre frammenti pervenuti, con evidenza di fibrosi sostitutiva e ispessimento endocardico. F) A maggiore ingrandimento, si evidenzia neoangiogenesi a livello della fibrosi sostitutiva, tipicamente associata a fibrosi post-ischemica. E, F) Colorazione tricromica di Heidenhain. Barre 200  $\mu$ m.

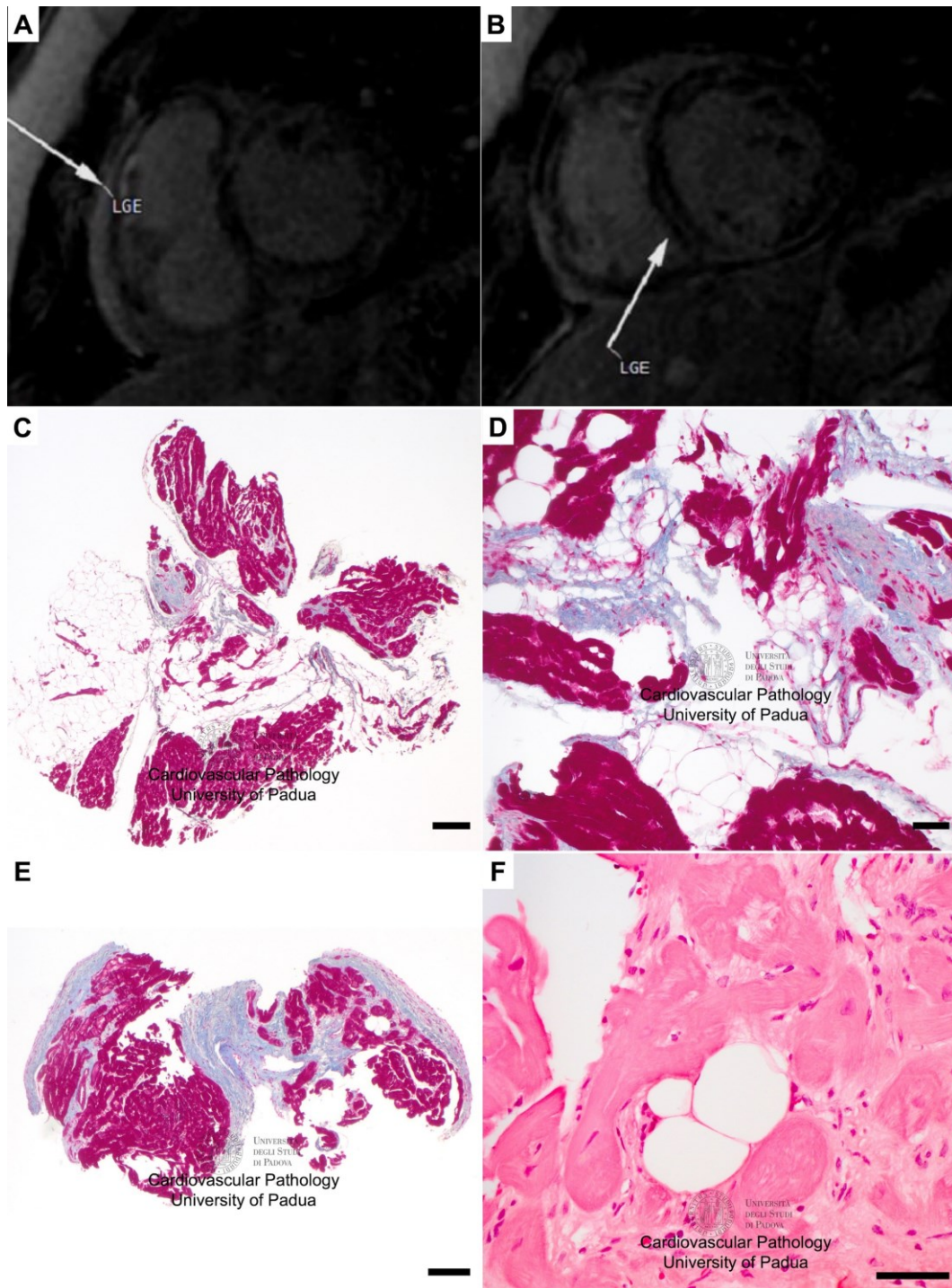
#### **4.3.4 La BEM nella cardiomiopatia aritmogena**

La BEM sinistra si può utilizzare per aiutare la diagnosi della ACM in particolare nel caso di coinvolgimento del VS, anche se ad oggi non esistono criteri istologici per questo tipo di diagnosi.

Il paziente è un uomo di 46 anni ex ciclista professionista. Da circa 14 anni riscontro di TV sostenuta e T negative infero-laterali all'ECG. All'ecografia VS lievemente dilatato con riduzione della funzione sistolica. Alla CMR risulta VD dilatato con funzione globale 57% in presenza di ipocinesia della parete libera apicale e acinesia del tratto di efflusso; ipocinesia della parete laterale medio apicale del VS e alterazioni del contrasto della parete epicardica laterale VS. Allo EVM TV sostenuta per cui si consigliava impianto di ICD che il paziente rifiutava e aree di basso voltaggio della porzione medio-apicale della parete laterale del ventricolo sinistro in corrispondenza di area discinetica. Alla ripetizione della CMR risultava VS di normali dimensioni con lieve riduzione sistolica globale (FE 49%). VD di normali dimensioni. Alterazioni della cinetica regionale ed estese aree di sostituzione fibroadiposa biventricolare a pattern non ischemico con prevalente interessamento del ventricolo sinistro. LGE subepicardico a livello della parete antero-laterale media, infero laterale e inferiore in toto, laterale distale e apice del VS. Più sfumata a livello di RVOT e parete diaframmatica del ventricolo destro. Compatibili con infiltrazione/metaplasia fibroadiposa.

All'istologia. La BEM del VS mostrava focale fibrosi sostitutiva (6%), cardiomiociti con alterazioni cardiomiopatiche, ingranditi (28micron dimensione media) e ispessimento endocardico. la BEM del VD presentava focale fibrosi sostitutiva (6%) e cardiomiociti con alterazioni cardiomiopatiche e diametro medio 23 micron.

La correlazione tra i dati clinici e le caratteristiche istologiche permette di confermare il sospetto di cardiomiopatia aritmogena, anche se non erano raggiunti i criteri istomorfometrici alla BEM.



*Figura 39: Correlazione tra CMR e BEM BIV in paziente con sospetto clinico di cardiomiopatia aritmogena. A) Evidenza di LGE (late gadolinium enhancement) e infiltrazione fibroadiposa a livello della parete libera del VD (freccia). B) LGE nella porzione infero-basale del setto interventricolare (freccia). C-D) BEM del VD con focale fibroadiposi sostitutiva. E-F) BEM del VS con evidenza di ispessimento fibroso endocardico (E) e alterazioni cardiomiopatiche in prossimità di un'area di fibrosi sostitutiva con rari adipociti (F). C-E) Colorazione tricromica di Heidenhain. F) Colorazione ematossilina-eosina. Barre C, E 200  $\mu$ m, D, F 100  $\mu$ m*

#### **4.4 Limitazioni dello studio**

La limitazione principale dello studio è rappresentata dalla bassa numerosità del campione. Tale criticità è riconducibile a due fattori: il primo è l'esecuzione della BEM del VS di routine solamente in due centri in Italia; il secondo dall'assenza, in molti referti, dell'indicazione della sede del prelievo, circostanza che ci ha portati a escludere numerosi campioni dall'analisi.

## Capitolo 5 – Conclusioni

### 5.1 Conclusioni

La sede della BEM rimane nella maggior parte dei casi il VD con approccio transvenoso, tuttavia in alcune situazioni cliniche, in particolare quando il VS risulta coinvolto in modo prevalente, la BEM in questa sede rimane indicata. Sebbene dal nostro studio non si evinca una correlazione significativa tra l'alterazione istologica e la diagnosi clinica, per alcune patologie la BEM rimane utile per confermare il sospetto diagnostico. La presenza di alterazioni istologiche correla significativamente con alcuni dati clinici, ma il significato di queste correlazioni deve essere indagato con ulteriori studi. Alcune ipotesi interessanti di correlazione riguardano la valutazione dell'impatto dell'ispessimento endocardico sull'EVM, e dell'importanza delle alterazioni cardiomiopatiche nell'analisi istologica dei campioni di VS, senza concentrare la ricerca anatomo-patologica sulla sola sostituzione fibrosa, anche a causa della frequente localizzazione subepicardica della lesione. Ciò può anche essere alla base della mancata correlazione tra fibrosi rilevata alla CMR o allo EVM e la fibrosi istologica nelle BEM del VS e si può quindi supporre che guidare la BEM attraverso studi di CMR o EVM non migliori il potere diagnostico della procedura, ad esclusione dei casi in cui il LGE sia transmurale o subendocardico, nei cui casi il riscontro di fibrosi è maggiore. Il nostro studio ha permesso anche di confermare alcuni dati di letteratura sulla relazione tra alterazioni cardiomiopatiche e sospetto diagnostico. Nell'esperienza del nostro studio la BEM del VS non consente una diagnosi specifica, con l'eccezione della miocardite, ma consente di identificare alterazioni miocardiche irreversibili che possono aiutare in decisione terapeutiche.



## Bibliografia

1. Weinberg M, Fell EH, Lynfield J. Diagnostic biopsy of the pericardium and myocardium. *AMA Arch Surg.* maggio 1958;76(5):825–9.
2. Kent G, Sutton DC, Sutton GC. Needle biopsy of the human ventricular myocardium. *Q Bull Northwest Univ Evanst Ill Med Sch.* 1956;30(3):213–4.
3. Melvin KR. Endomyocardial biopsy: its history, techniques and current indications. :6.
4. Sakakibara S, Konno S. Endomyocardial biopsy. *Jpn Heart J.* novembre 1962;3:537–43.
5. Caves PK, Stinson EB, Graham AF, Billingham ME, Grehl TM, Shumway NE. Percutaneous transvenous endomyocardial biopsy. *JAMA.* 16 luglio 1973;225(3):288–91.
6. Richardson PJ. King's endomyocardial biptome. *Lancet Lond Engl.* aprile 1974;1(7859):660–1.
7. Yilmaz A, Kindermann I, Kindermann M, Mahfoud F, Ukena C, Athanasiadis A, et al. Comparative Evaluation of Left and Right Ventricular Endomyocardial Biopsy: Differences in Complication Rate and Diagnostic Performance. *Circulation.* 31 agosto 2010;122(9):900–9.
8. Seldinger SI. Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography; a new technique. *Acta Radiol.* maggio 1953;39(5):368–76.
9. Bussani R, Silvestri F, Perkan A, Gentile P, Sinagra G. Endomyocardial Biopsy. In: Sinagra G, Merlo M, Pinamonti B, curatori. *Dilated Cardiomyopathy* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2019 [citato 6 settembre 2022]. p. 135–47. Disponibile su: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-13864-6\\_9](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-13864-6_9)
10. Mbbs TC. Transradial Approach for Left Ventricular Endomyocardial Biopsy. *Can J Cardiol.* 2018;34:6.
11. Seferovic PM, Tsutsui H, Mcnamara DM, Ristić AD, Basso C, Bozkurt B, et al. Heart Failure Association, Heart Failure Society of America, and Japanese Heart Failure Society Position Statement on Endomyocardial Biopsy. *J Card Fail.* luglio 2021;27(7):727–43.
12. Cooper LT, Baughman KL, Feldman AM, Frustaci A, Jessup M, Kuhl U, et al. The Role of Endomyocardial Biopsy in the Management of Cardiovascular Disease. *Circulation.* 6 novembre 2007;116(19):2216–33.

13. Leone O, Veinot JP, Angelini A, Baandrup UT, Basso C, Berry G, et al. 2011 Consensus statement on endomyocardial biopsy from the Association for European Cardiovascular Pathology and the Society for Cardiovascular Pathology. *Cardiovasc Pathol.* luglio 2012;21(4):245–74.
14. Caforio ALP, Pankuweit S, Arbustini E, Basso C, Gimeno-Blanes J, Felix SB, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J.* settembre 2013;34(33):2636–48, 2648a–2648d.
15. Cooper LT. Myocarditis. *N Engl J Med.* 9 aprile 2009;360(15):1526–38.
16. Tschöpe C, Ammirati E, Bozkurt B, Caforio ALP, Cooper LT, Felix SB, et al. Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions. *Nat Rev Cardiol.* marzo 2021;18(3):169–93.
17. Fairfax MJ, Osborn TG, Williams GA, Tsai CC, Moore TL. Endomyocardial biopsy in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* aprile 1988;15(4):593–6.
18. Basso C. Myocarditis. *N Engl J Med.* 20 ottobre 2022;387(16):1488–500.
19. Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, Factor SM, Fallon JT, Fenoglio JJ, et al. Myocarditis. A histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol.* gennaio 1987;1(1):3–14.
20. Maisch: World Heart Federation consensus conference's... - Google Scholar [Internet]. [citato 12 settembre 2022]. Disponibile su: [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=World%20Heart%20Federation%20consensus%20conferences%27s%20definition%20of%20inflammatory%20cardiomyopathy%20%28myocarditis%29%3A%20report%20from%20two%20expert%20committees%20on%20histology%20and%20viral%20cardiomyopathy&author=B%20Maisch&author=B%20B%3BCltmann&author=S%20Factor&author=H-J%20Gr%C3%B6ne&author=G%20Hufnagel&author=K%20Kawamura&author=U%20K%C3%Chl&author=EJ%20Olsen&author=S%20Pankuweit&author=R%20Virmani&author=W%20McKenna&author=PJ%20Richardson&author=G%20Thiene&author=HP%20Schultheiss&author=M%20Sekiguchi&publication\\_year=1999&journal=Heartbeat&volume=4&pages=3-4](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=World%20Heart%20Federation%20consensus%20conferences%27s%20definition%20of%20inflammatory%20cardiomyopathy%20%28myocarditis%29%3A%20report%20from%20two%20expert%20committees%20on%20histology%20and%20viral%20cardiomyopathy&author=B%20Maisch&author=B%20B%3BCltmann&author=S%20Factor&author=H-J%20Gr%C3%B6ne&author=G%20Hufnagel&author=K%20Kawamura&author=U%20K%C3%Chl&author=EJ%20Olsen&author=S%20Pankuweit&author=R%20Virmani&author=W%20McKenna&author=PJ%20Richardson&author=G%20Thiene&author=HP%20Schultheiss&author=M%20Sekiguchi&publication_year=1999&journal=Heartbeat&volume=4&pages=3-4)
21. Cooper LT, Berry GJ, Shabetai R. Idiopathic giant-cell myocarditis--natural history and treatment. Multicenter Giant Cell Myocarditis Study Group Investigators. *N Engl J Med.* 26 giugno 1997;336(26):1860–6.
22. Kawai C. From Myocarditis to Cardiomyopathy: Mechanisms of Inflammation and Cell Death. *Circulation.* 2 marzo 1999;99(8):1091–100.

23. Dennert R, Crijns HJ, Heymans S. Acute viral myocarditis. *Eur Heart J.* settembre 2008;29(17):2073–82.
24. Tavazzi G, Pellegrini C, Maurelli M, Belliato M, Sciutti F, Bottazzi A, et al. Myocardial localization of coronavirus in COVID-19 cardiogenic shock. *Eur J Heart Fail.* 2020;22(5):911–5.
25. Basso C, Leone O, Rizzo S, De Gaspari M, van der Wal AC, Aubry MC, et al. Pathological features of COVID-19-associated myocardial injury: a multicentre cardiovascular pathology study. *Eur Heart J.* 14 ottobre 2020;41(39):3827–35.
26. Katzmann JL, Schlattmann P, Rigopoulos AG, Noutsias E, Bigalke B, Pauschinger M, et al. Meta-analysis on the immunohistological detection of inflammatory cardiomyopathy in endomyocardial biopsies. *Heart Fail Rev.* 1 marzo 2020;25(2):277–94.
27. Stanek G, Klein J, Bittner R, Glogar D. Isolation of *Borrelia burgdorferi* from the Myocardium of a Patient with Long-Standing Cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 25 gennaio 1990;322(4):249–52.
28. Stanek G, Klein J, Bittner R, Glogar D. *Borrelia burgdorferi* as an etiologic agent in chronic heart failure? *Scand J Infect Dis Suppl.* 1991;77:85–7.
29. Kubánek M, Šramko M, Berenová D, Hulínská D, Hrbáčková H, Malušková J, et al. Detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in endomyocardial biopsy specimens in individuals with recent-onset dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* giugno 2012;14(6):588–96.
30. Kuchynka P, Palecek T, Havranek S, Vitkova I, Nemecek E, Trckova R, et al. Recent-onset dilated cardiomyopathy associated with *Borrelia burgdorferi* infection. *Herz.* 1 settembre 2015;40(6):892–7.
31. DeFilippis EM, Nohria A. Radiation-induced heart disease: surveillance and management. In: Camm AJ, Lüscher TF, Maurer G, Serruys PW, curatori. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine* [Internet]. Oxford University Press; 2018 [citato 13 settembre 2022]. p. 0. Disponibile su: <https://doi.org/10.1093/med/9780198784906.003.0288>
32. Omland T. Trastuzumab-related cardiotoxicity: epidemiology, surveillance, management, prophylaxis, and prognosis. In: Camm AJ, Lüscher TF, Maurer G, Serruys PW, curatori. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine* [Internet]. Oxford University Press; 2018 [citato 13 settembre 2022]. p. 0. Disponibile su: <https://doi.org/10.1093/med/9780198784906.003.0291>
33. Sweeney M, Lyon A. Cardiovascular complications of novel kinase inhibitors. In: Camm AJ, Lüscher TF, Maurer G, Serruys PW, curatori. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine* [Internet]. Oxford University Press; 2018 [citato 13

settembre 2022]. p. 0. Disponibile su:  
<https://doi.org/10.1093/med/9780198784906.003.0292>

34. Chu TF, Rupnick MA, Kerkela R, Dallabrida SM, Zurakowski D, Nguyen L, et al. Cardiotoxicity associated with tyrosine kinase inhibitor sunitinib. *Lancet Lond Engl.* 15 dicembre 2007;370(9604):2011–9.
35. Kerkelä R, Grazette L, Yacobi R, Iliescu C, Patten R, Beahm C, et al. Cardiotoxicity of the cancer therapeutic agent imatinib mesylate. *Nat Med.* agosto 2006;12(8):908–16.
36. Cardinale D, Cipolla CM. Anthracycline-related cardiotoxicity: epidemiology, surveillance, prophylaxis, management, and prognosis. In: Camm AJ, Lüscher TF, Maurer G, Serruys PW, curatori. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine* [Internet]. Oxford University Press; 2018 [citato 13 settembre 2022]. p. 0. Disponibile su:  
[https://doi.org/10.1093/med/9780198784906.003.0290\\_update\\_001](https://doi.org/10.1093/med/9780198784906.003.0290_update_001)
37. Billingham ME, Mason JW, Bristow MR, Daniels JR. Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. *Cancer Treat Rep.* giugno 1978;62(6):865–72.
38. Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, Tedeschi I, Meroni CA, Veglia F, et al. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation.* 2 giugno 2015;131(22):1981–8.
39. Kusumoto S, Kawano H, Hayashi T, Satoh O, Yonekura T, Eguchi M, et al. Cyclophosphamide-induced cardiotoxicity with a prolonged clinical course diagnosed on an endomyocardial biopsy. *Intern Med Tokyo Jpn.* 2013;52(20):2311–5.
40. Lyon AR, Yousaf N, Battisti NML, Moslehi J, Larkin J. Immune checkpoint inhibitors and cardiovascular toxicity. *Lancet Oncol.* settembre 2018;19(9):e447–58.
41. Zhang L, Awadalla M, Mahmood SS, Nohria A, Hassan MZO, Thuny F, et al. Cardiovascular magnetic resonance in immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis. *Eur Heart J.* 7 maggio 2020;41(18):1733–43.
42. Vasichkina E, Poghosyan H, Mitrofanova L, Tatarsky R, Lebedev D. Right ventricular endomyocardial biopsy in children and adolescents with drug-refractory arrhythmia. *Cardiol Young.* aprile 2017;27(3):435–42.
43. Vignola PA, Aonuma K, Swaye PS, Rozanski JJ, Blankstein RL, Benson J, et al. Lymphocytic myocarditis presenting as unexplained ventricular arrhythmias: diagnosis with endomyocardial biopsy and response to immunosuppression. *J Am Coll Cardiol.* ottobre 1984;4(4):812–9.

44. Birnie DH, Sauer WH, Bogun F, Cooper JM, Culver DA, Duvernoy CS, et al. HRS expert consensus statement on the diagnosis and management of arrhythmias associated with cardiac sarcoidosis. *Heart Rhythm*. luglio 2014;11(7):1305–23.
45. Casella M, Dello Russo A, Bergonti M, Catto V, Conte E, Sommariva E, et al. Diagnostic Yield of Electroanatomic Voltage Mapping in Guiding Endomyocardial Biopsies. *Circulation*. 29 settembre 2020;142(13):1249–60.
46. Kusumoto FM, Schoenfeld MH, Barrett C, Edgerton JR, Ellenbogen KA, Gold MR, et al. 2018 ACC/AHA/HRS Guideline on the Evaluation and Management of Patients With Bradycardia and Cardiac Conduction Delay: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *Circulation*. 20 agosto 2019;140(8):e382–482.
47. Frustaci A, Letizia C, Adamo F, Grande C, Verardo R, Chimenti C. A-V block as presentation of cardiac amyloid: prominent infiltration of conduction tissue revealed by endomyocardial biopsy. *Amyloid Int J Exp Clin Investig Off J Int Soc Amyloidosis*. giugno 2017;24(2):131–2.
48. Nord JE, Shah PK, Rinaldi RZ, Weisman MH. Hydroxychloroquine cardiotoxicity in systemic lupus erythematosus: a report of 2 cases and review of the literature. *Semin Arthritis Rheum*. aprile 2004;33(5):336–51.
49. Authors/Task Force members, Elliott PM, Anastasakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, et al. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 14 ottobre 2014;35(39):2733–79.
50. Antunes M de O, Scudeler TL. Hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiol Heart Vasc*. 25 marzo 2020;27:100503.
51. Rubin J, Maurer MS. Cardiac Amyloidosis: Overlooked, Underappreciated, and Treatable. *Annu Rev Med*. 27 gennaio 2020;71:203–19.
52. Rezk T, Gilbertson JA, Mangione PP, Rowczenio D, Rendell NB, Canetti D, et al. The complementary role of histology and proteomics for diagnosis and typing of systemic amyloidosis. *J Pathol Clin Res*. luglio 2019;5(3):145–53.
53. Olson LJ, Edwards WD, Holmes DR, Miller FA, Nordstrom LA, Baldus WP. Endomyocardial biopsy in hemochromatosis: clinicopathologic correlates in six cases. *J Am Coll Cardiol*. gennaio 1989;13(1):116–20.

54. Smid BE, van der Tol L, Cecchi F, Elliott PM, Hughes DA, Linthorst GE, et al. Uncertain diagnosis of Fabry disease: consensus recommendation on diagnosis in adults with left ventricular hypertrophy and genetic variants of unknown significance. *Int J Cardiol.* 15 dicembre 2014;177(2):400–8.
55. Zanobini M, Dello Russo A, Saccocci M, Conti S, De Camilli E, Vettor G, et al. Endomyocardial biopsy guided by intracardiac echocardiography as a key step in intracardiac mass diagnosis. *BMC Cardiovasc Disord.* 30 gennaio 2018;18(1):15.
56. Nguyen CT, Lee E, Luo H, Siegel RJ. Echocardiographic guidance for diagnostic and therapeutic percutaneous procedures. *Cardiovasc Diagn Ther.* dicembre 2011;1(1):11–36.
57. Delgado JF, Sánchez V, de la Calzada CS. Acute rejection after heart transplantation. *Expert Opin Pharmacother.* giugno 2006;7(9):1139–49.
58. Hamour IM, Burke MM, Bell AD, Panicker MG, Banerjee R, Banner NR. Limited utility of endomyocardial biopsy in the first year after heart transplantation. *Transplantation.* 15 aprile 2008;85(7):969–74.
59. Weckbach LT, Maurer U, Schramm R, Huber BC, Lackermair K, Weiss M, et al. Lower frequency routine surveillance endomyocardial biopsies after heart transplantation. *PLoS ONE.* 25 agosto 2017;12(8):e0182880.
60. Chi NH, Chou NK, Tsao CI, Huang SC, Wu IH, Yu HY, et al. Endomyocardial biopsy in heart transplantation: schedule or event? *Transplant Proc.* maggio 2012;44(4):894–6.
61. SCVP Endomyocardial Biopsy Tutorial [Internet]. [citato 16 settembre 2022]. Disponibile su: <http://scvp.net/acr/grading.html>
62. Stewart S, Winters GL, Fishbein MC, Tazelaar HD, Kobashigawa J, Abrams J, et al. Revision of the 1990 Working Formulation for the Standardization of Nomenclature in the Diagnosis of Heart Rejection. *J Heart Lung Transplant.* 1 novembre 2005;24(11):1710–20.
63. Yilmaz, Ali, Klingel K, Sechtem U. Endomyocardial biopsy. In: *Percutaneous interventional cardiovascular medicine: The PCR-EAPCI Textbook* [Internet]. 1<sup>a</sup> ed. Spain: PCR Publ.; 2012 [citato 18 settembre 2022]. Disponibile su: <https://www.pcronline.com/eurointervention/textbook/pcr-textbook/table-of-contents/>
64. Mahrholdt H, Goedecke C, Wagner A, Meinhardt G, Athanasiadis A, Vogelsberg H, et al. Cardiovascular Magnetic Resonance Assessment of Human Myocarditis. *Circulation.* 16 marzo 2004;109(10):1250–8.

65. Schäufele TG, Spittler R, Karagianni A, Ong P, Klingel K, Kandolf R, et al. Transradial left ventricular endomyocardial biopsy: assessment of safety and efficacy. *Clin Res Cardiol Off J Ger Card Soc.* settembre 2015;104(9):773–81.
66. Nobre Menezes M, Infante Oliveira E, Costa e Silva A, Brito D, Azevedo Coutinho M da C, Canas da Silva P, et al. Transradial left ventricular endomyocardial biopsy feasibility, safety and clinical usefulness: Initial experience of a tertiary university center. *Rev Port Cardiol Engl Ed.* agosto 2020;39(8):453–60.
67. Holzmann M, Nicko A, Kühl U, Noutsias M, Poller W, Hoffmann W, et al. Complication rate of right ventricular endomyocardial biopsy via the femoral approach: a retrospective and prospective study analyzing 3048 diagnostic procedures over an 11-year period. *Circulation.* 21 ottobre 2008;118(17):1722–8.
68. Francis R, Lewis C. Myocardial biopsy: techniques and indications. *Heart.* giugno 2018;104(11):950–8.
69. Choudhury T, Lurz P, Schäufele T, Menezes M, Lavi S, Tzemos N, et al. Radial versus femoral approach for left ventricular endomyocardial biopsy [Internet]. *EuroIntervention.* [citato 19 settembre 2022]. Disponibile su: <https://eurointervention.pconline.com/article/radial-versus-femoral-approach-for-left-ventricular-endomyocardial-biopsy>
70. Killu AM, Mehta N, Zheng Q, Sobieszczyk P, Tedrow UB, Stevenson WG, et al. Endomyocardial biopsy at the time of ablation or device implantation. *J Interv Card Electrophysiol Int J Arrhythm Pacing.* luglio 2018;52(2):163–9.
71. Fiorelli AI, Benvenuti L, Aiello V, Coelho AQ, Palazzo JF, Rossener R, et al. Comparative Analysis of the Complications of 5347 Endomyocardial Biopsies Applied to Patients After Heart Transplantation and With Cardiomyopathies: A Single-center Study. *Transplant Proc.* 1 ottobre 2012;44(8):2473–8.
72. Chimenti C, Frustaci A. Contribution and Risks of Left Ventricular Endomyocardial Biopsy in Patients With Cardiomyopathies. *Circulation.* ottobre 2013;128(14):1531–41.
73. Gabriel Kanhouche MD, Mauricio Felippi de Sá Marchi MD, Gilberto Guilherme Ajar Marchiori MD, Antônio Fernando D. Freire MD, Alexandre A. Cunha Abizaid MD. Post-Endomyocardial Biopsy Fistula Between Left Anterior Descending Artery and Right Ventricle. *J Invasive Cardiol [Internet].* 1 marzo 2022 [citato 27 marzo 2023];34(3). Disponibile su: <https://www.hmpglobelearning-network.com/site/jic/clinical-images/post-endomyocardial-biopsy-fistula-between-anterior-descending-artery-and>
74. Ho SY. Anatomy and myoarchitecture of the left ventricular wall in normal and in disease. *Eur J Echocardiogr J Work Group Echocardiogr Eur Soc Cardiol.* dicembre 2009;10(8):iii3–7.

75. Yokoyama Y, Yamagata K, Kanzaki H, Kusano K. Left ventricular endomyocardial biopsy guided by intracardiac echocardiography via a trans-septal approach. *BMJ Case Rep CP*. 1 luglio 2021;14(7):e243176.
76. Haanschoten DM, Adiyaman A, 't Hart NA, Jager PL, Elvan A. Value of 3D mapping-guided endomyocardial biopsy in cardiac sarcoidosis: Case series and narrative review on the value of electro-anatomic mapping-guided endomyocardial biopsies. *Eur J Clin Invest*. aprile 2021;51(4):e13497.
77. Pearman JL, Wall SL, Chen L, Rogers JH. Intracardiac echocardiographic-guided right-sided cardiac biopsy: Case series and literature review. *Catheter Cardiovasc Interv Off J Soc Card Angiogr Interv*. 1 novembre 2021;98(5):1000–5.
78. Rogers T, Ratnayaka K, Karmarkar P, Campbell-Washburn AE, Schenke WH, Mazal JR, et al. Real-Time Magnetic Resonance Imaging Guidance Improves the Diagnostic Yield of Endomyocardial Biopsy. *JACC Basic Transl Sci*. 29 agosto 2016;1(5):376–83.
79. Hauck AJ, Kearney DL, Edwards WD. Evaluation of postmortem endomyocardial biopsy specimens from 38 patients with lymphocytic myocarditis: implications for role of sampling error. *Mayo Clin Proc*. ottobre 1989;64(10):1235–45.
80. Saito T, Sato NS, Mozawa K, Adachi A, Sasaki Y, Nakamura K, et al. Myocardial ultrastructure can augment genetic testing for sporadic dilated cardiomyopathy with initial heart failure. *ESC Heart Fail*. 6 settembre 2021;8(6):5178–91.
81. Orphanet: Distrofinopatia [Internet]. [citato 21 settembre 2022]. Disponibile su: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=IT&data\\_id=55&Disease\\_Disease\\_Search\\_disease-Type=ORPHA&Disease\\_Disease\\_Search\\_disease-Group=262&Grupo%20de%20doen%27as%20relacionadas=Distrofinopatia&title=Distrofinopatia&search=Disease\\_Search\\_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=IT&data_id=55&Disease_Disease_Search_disease-Type=ORPHA&Disease_Disease_Search_disease-Group=262&Grupo%20de%20doen%27as%20relacionadas=Distrofinopatia&title=Distrofinopatia&search=Disease_Search_Simple)
82. Limongelli G, Tome-Esteban M, Dejthevaporn C, Rahman S, Hanna MG, Elliott PM. Prevalence and natural history of heart disease in adults with primary mitochondrial respiratory chain disease. *Eur J Heart Fail*. 2010;12(2):114–21.
83. Thiene G, Nava A, Corrado D, Rossi L, Pennelli N. Right Ventricular Cardiomyopathy and Sudden Death in Young People. *N Engl J Med*. 21 gennaio 1988;318(3):129–33.
84. Corrado D, Marra MP, Zorzi A, Beffagna G, Cipriani A, Lazzari MD, et al. Diagnosis of arrhythmogenic cardiomyopathy: The Padua criteria. *Int J Cardiol*. 15 novembre 2020;319:106–14.



85. Basso C, Ronco F, Marcus F, Abudurehman A, Rizzo S, Frigo AC, et al. Quantitative assessment of endomyocardial biopsy in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: an in vitro validation of diagnostic criteria. *Eur Heart J*. novembre 2008;29(22):2760–71.
86. Asimaki A, Tandri H, Huang H, Halushka MK, Gautam S, Basso C, et al. A New Diagnostic Test for Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 12 marzo 2009;360(11):1075–84.
87. Ogbogu PU, Rosing DR, Horne MK. Cardiovascular Manifestations of Hypereosinophilic Syndromes. *Immunol Allergy Clin North Am*. 1 agosto 2007;27(3):457–75.
88. Ladyjanskaia GA, Basso C, Hobbelink MG g., Kirkels JH, Lahpor JR, Cramer MJ, et al. Sarcoid Myocarditis With Ventricular Tachycardia Mimicking ARVD/C. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2010;21(1):94–8.
89. Ardehali H, Howard DL, Hariri A, Qasim A, Hare JM, Baughman KL, et al. A positive endomyocardial biopsy result for sarcoid is associated with poor prognosis in patients with initially unexplained cardiomyopathy. *Am Heart J*. 1 settembre 2005;150(3):459–63.
90. Crotty TB, Li CY, Edwards WD, Suman VJ. Amyloidosis and endomyocardial biopsy: Correlation of extent and pattern of deposition with amyloid immunophenotype in 100 cases. *Cardiovasc Pathol*. 1 gennaio 1995;4(1):39–42.
91. Olson LJ, Edwards WD, McCall JT, Ilstrup DM, Gersh BJ. Cardiac iron deposition in idiopathic hemochromatosis: Histologic and analytic assessment of 14 hearts from autopsy. *J Am Coll Cardiol*. 1 dicembre 1987;10(6):1239–43.
92. Otten E, Asimaki A, Maass A, van Langen IM, van der Wal A, de Jonge N, et al. Desmin mutations as a cause of right ventricular heart failure affect the intercalated disks. *Heart Rhythm*. 1 agosto 2010;7(8):1058–64.
93. Mehta A, Ricci R, Widmer U, Dehout F, Garcia de Lorenzo A, Kampmann C, et al. Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patients in the Fabry Outcome Survey. *Eur J Clin Invest*. 2004;34(3):236–42.
94. Thurberg BL, Fallon JT, Mitchell R, Aretz T, Gordon RE, O’Callaghan MW. Cardiac Microvascular Pathology in Fabry Disease. *Circulation*. 19 maggio 2009;119(19):2561–7.
95. Thiene G, Rizzo S, Marra MP, Valente M, Basso C. Masses and cardiac tumours: classification and diagnosis. In: Thiene G, Camm AJ, Lüscher TF, Maurer G, Seruys PW, curatori. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine [Internet]*. Oxford University Press; 2018 [citato 21 settembre 2022]. p. 0. Disponibile su: <https://doi.org/10.1093/med/9780198784906.003.0386>

96. Basso C, Rizzo S, Marra MP, Valente M, Thiene G. Benign cardiac tumours. In: Thiene G, Camm AJ, Lüscher TF, Maurer G, Serruys PW, curatori. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine* [Internet]. Oxford University Press; 2018 [citato 21 settembre 2022]. p. 0. Disponibile su: <https://doi.org/10.1093/med/9780198784906.003.0387>
97. Basso C, Rizzo S, Valente M, Marra MP, Thiene G. Malignant tumours, pericardial tumours, and therapy. In: Thiene G, Camm AJ, Lüscher TF, Maurer G, Serruys PW, curatori. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine* [Internet]. Oxford University Press; 2018 [citato 21 settembre 2022]. p. 0. Disponibile su: <https://doi.org/10.1093/med/9780198784906.003.0388>
98. Lone RA, Ahanger AG, Singh S, Mehmood W, Shah S, Lone G, et al. Atrial Myxoma: Trends in Management. *Int J Health Sci*. luglio 2008;2(2):141–51.
99. Casella M, Bergonti M, Dello Russo A, Maragna R, Gasperetti A, Compagnucci P, et al. Endomyocardial Biopsy: The Forgotten Piece in the Arrhythmogenic Cardiomyopathy Puzzle. *J Am Heart Assoc Cardiovasc Cerebrovasc Dis*. 25 settembre 2021;10(19):e021370.
100. Domínguez F, Cobas Paz R, Salas Antón C, Coloméless M, Oteo-Domínguez JF, Escobar-López L, et al. Endomyocardial biopsy-confirmed myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: clinical profile and prognosis. *Rev Esp Cardiol Engl Ed*. 1 novembre 2022;75(11):874–82.
101. Bergonti M, Dello Russo A, Catto V, Gasperetti A, Sicuso R, Vettor G, et al. Myocarditis and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a diagnostic challenge. *Eur Heart J*. 1 novembre 2020;41(Supplement\_2):ehaa946.2103.
102. Corrado D, Basso C, Leoni L, Tokajuk B, Bauce B, Frigo G, et al. Three-Dimensional Electroanatomic Voltage Mapping Increases Accuracy of Diagnosing Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia. *Circulation*. 14 giugno 2005;111(23):3042–50.
103. Herzog BA, Greenwood JP, Plein S. *Cardiovascular Magnetic Resonance Pocket Guide*.
104. Backhaus SJ, Metschies G, Billing M, Schmidt-Rimpler J, Kowallick JT, Gertz RJ, et al. Defining the optimal temporal and spatial resolution for cardiovascular magnetic resonance imaging feature tracking. *J Cardiovasc Magn Reson*. 17 maggio 2021;23(1):60.
105. Corrado D, Basso C, Judge DP. Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *Circ Res*. 15 settembre 2017;121(7):784–802.
106. Ri R, A B, Ot P, Dg M, I G, L M. Histological and immunohistochemical changes of the myocardium in dilated cardiomyopathy. *Romanian J Morphol Embryol*

Rev Roum Morphol Embryol [Internet]. 2012 [citato 5 giugno 2023];53(2). Disponibile su: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22732795/>

107. Casella M, Pizzamiglio F, Dello Russo A, Carbucicchio C, Al-Mohani G, Russo E, et al. Feasibility of Combined Unipolar and Bipolar Voltage Maps to Improve Sensitivity of Endomyocardial Biopsy. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* giugno 2015;8(3):625–32.
108. Freed LA, Levy D, Levine RA, Larson MG, Evans JC, Fuller DL, et al. Prevalence and Clinical Outcome of Mitral-Valve Prolapse. *N Engl J Med.* luglio 1999;341(1):1–7.
109. Basso C, Perazzolo Marra M, Rizzo S, De Lazzari M, Giorgi B, Cipriani A, et al. Arrhythmic Mitral Valve Prolapse and Sudden Cardiac Death. *Circulation.* 18 agosto 2015;132(7):556–66.
110. Basso C, Iliceto S, Thiene G, Perazzolo Marra M. Mitral Valve Prolapse, Ventricular Arrhythmias, and Sudden Death. *Circulation.* 10 settembre 2019;140(11):952–64.
111. Agewall S, Beltrame JF, Reynolds HR, Niessner A, Rosano G, Caforio ALP, et al. ESC working group position paper on myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries. *Eur Heart J.* 14 gennaio 2017;38(3):143–53.

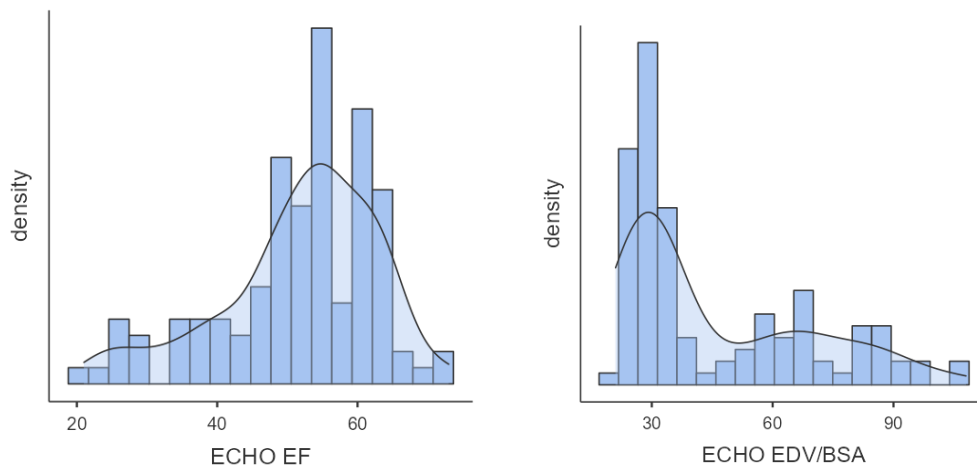
## Addendum: tabelle e statistica

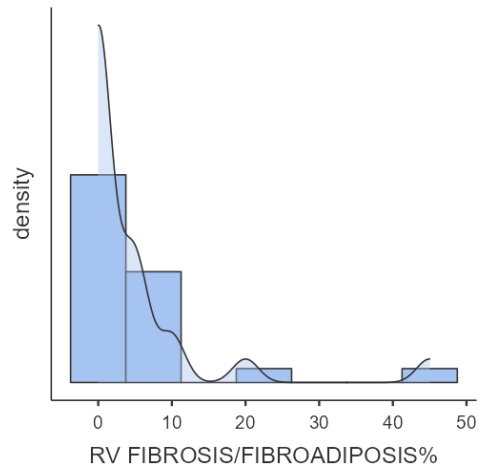
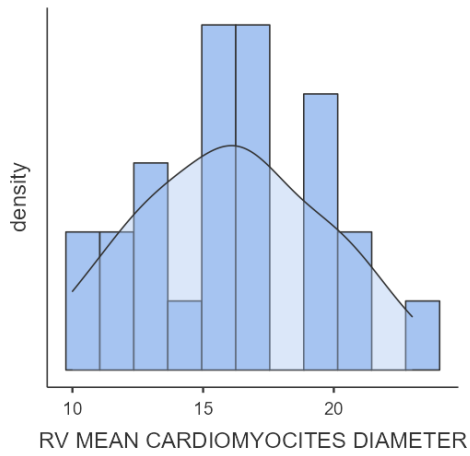
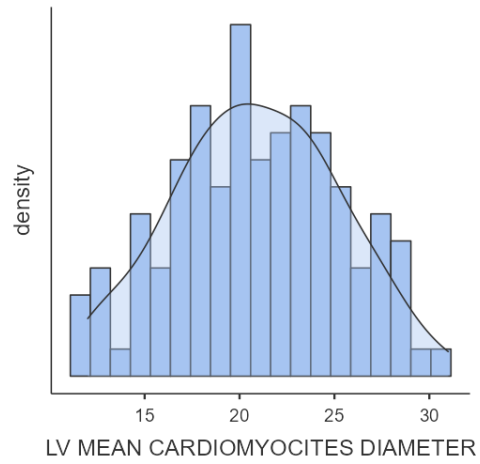
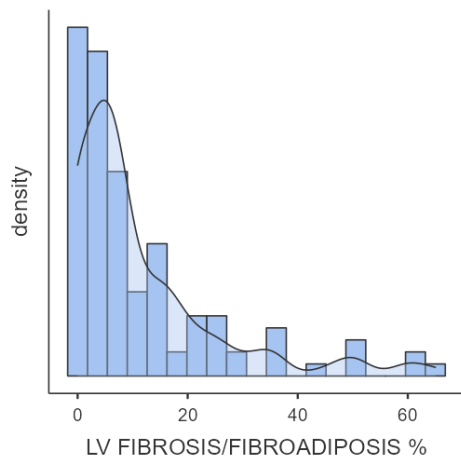
### Lista delle abbreviazioni

BEM: biopsia endomiocardica; VS: ventricolo sinistro; VD: ventricolo destro; BIV: biventricolare; ICI: inibitori del checkpoint immunitario; CMR: risonanza magnetica cardiaca; LGE: acquisizione tardiva post-contrasto; LES: lupus eritematoso sistemico; rsBEM: biopsie endomiocardiche routinarie di sorveglianza; ECG: elettrocardiogramma; TT: transtoracico; ACT: tempo di coagulazione attivato; LAO: anteriore obliqua sinistra; RAO: anteriore obliqua destra; FE: frazione di eiezione; EDV/BSA: volume telediastolico indicizzato; BEV: battiti ectopici ventricolari; ACM: cardiomiopatia aritmogena; DCM: cardiomiopatia dilatativa; EVM: studio elettrofisiologico/mappaggio elettroanatomico; TV: tachicardia ventricolare; FV: fibrillazione ventricolare.

### Tabelle e grafici di analisi statistica

Grafici di distribuzione variabili descrittive della popolazione:





**Tabelle di Contingenza per le correlazioni tra sintomi clinici e alterazioni istologiche alla microscopia ottica.**

| EVM POSITIVE | LV FIBROSIS |    | Totale |
|--------------|-------------|----|--------|
|              | 0           | 1  |        |
| 0            | 13          | 16 | 29     |
| 1            | 27          | 59 | 86     |
| Totale       | 40          | 75 | 115    |

Tabelle di Contingenza

| <b>ECG REPOLARIZATION ALTERATIONS</b> | <b>LV FIBROSIS</b> |           |               |
|---------------------------------------|--------------------|-----------|---------------|
|                                       | <b>0</b>           | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
| 0                                     | 24                 | 25        | 49            |
| 1                                     | 15                 | 51        | 66            |
| <b>Totale</b>                         | <b>39</b>          | <b>76</b> | <b>115</b>    |

Tabelle di Contingenza

| <b>ECHO LV DILATION</b> | <b>LV FIBROSIS</b> |           |               |
|-------------------------|--------------------|-----------|---------------|
|                         | <b>0</b>           | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
| 0                       | 31                 | 40        | 71            |
| 1                       | 9                  | 36        | 45            |
| <b>Totale</b>           | <b>40</b>          | <b>76</b> | <b>116</b>    |

| <b>LGE POSITIVE</b> | <b>LV FIBROSIS</b> |           |               |
|---------------------|--------------------|-----------|---------------|
|                     | <b>0</b>           | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
| 0                   | 3                  | 4         | 7             |
| 1                   | 36                 | 68        | 104           |
| <b>Totale</b>       | <b>39</b>          | <b>72</b> | <b>111</b>    |

| <b>EF REDUCTION</b> | <b>LV CMP CHANGES</b> |           |               |
|---------------------|-----------------------|-----------|---------------|
|                     | <b>0</b>              | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
| 0                   | 32                    | 46        | 78            |
| 1                   | 6                     | 32        | 38            |
| <b>Totale</b>       | <b>38</b>             | <b>78</b> | <b>116</b>    |

**LV VACUOLISATIONS**

| <b>EF REDUCTION</b> | <b>0</b>  | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
|---------------------|-----------|-----------|---------------|
| 0                   | 61        | 17        | 78            |
| 1                   | 19        | 19        | 38            |
| <b>Totale</b>       | <b>80</b> | <b>36</b> | <b>116</b>    |

**LV CMP CHANGES**

| <b>ECHO LV DILATION</b> | <b>0</b>  | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
|-------------------------|-----------|-----------|---------------|
| 0                       | 29        | 42        | 71            |
| 1                       | 9         | 36        | 45            |
| <b>Totale</b>           | <b>38</b> | <b>78</b> | <b>116</b>    |

**LV VACUOLISATIONS**

| <b>ECHO LV DILATION</b> | <b>0</b>  | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
|-------------------------|-----------|-----------|---------------|
| 0                       | 54        | 17        | 71            |
| 1                       | 26        | 19        | 45            |
| <b>Totale</b>           | <b>80</b> | <b>36</b> | <b>116</b>    |

**LV CMP CHANGES**

| <b>VT/VF</b>  | <b>0</b>  | <b>1</b>  | <b>To-<br/>tale</b> |
|---------------|-----------|-----------|---------------------|
| 0             | 26        | 35        | 61                  |
| 1             | 12        | 43        | 55                  |
| <b>Totale</b> | <b>38</b> | <b>78</b> | <b>116</b>          |

**LV VACUOLISATIONS**

| <b>VT/VF</b> | <b>0</b> | <b>1</b> | <b>Totale</b> |
|--------------|----------|----------|---------------|
| 0            | 48       | 13       | 61            |

| <b>LV CMP CHANGES</b> |          |          |                     |
|-----------------------|----------|----------|---------------------|
| <b>VT/VF</b>          | <b>0</b> | <b>1</b> | <b>To-<br/>tale</b> |
| 1                     | 32       | 23       | 55                  |
| To-<br>tale           | 80       | 36       | 116                 |

| <b>LV CMP CHANGES</b> |          |          |               |
|-----------------------|----------|----------|---------------|
| <b>EVM POSITIVE</b>   | <b>0</b> | <b>1</b> | <b>Totale</b> |
| 0                     | 14       | 15       | 29            |
| 1                     | 23       | 63       | 86            |
| Totale                | 37       | 78       | 115           |

| <b>LV CMP CHANGES</b> |          |          |               |
|-----------------------|----------|----------|---------------|
| <b>LV FIBROSIS</b>    | <b>0</b> | <b>1</b> | <b>Totale</b> |
| 0                     | 18       | 22       | 40            |
| 1                     | 20       | 56       | 76            |
| Totale                | 38       | 78       | 116           |

| <b>LV CMP CHANGES</b>   |          |          |               |
|-------------------------|----------|----------|---------------|
| <b>LV FIBROADIPOSIS</b> | <b>0</b> | <b>1</b> | <b>Totale</b> |
| 0                       | 38       | 67       | 105           |
| 1                       | 0        | 11       | 11            |
| Totale                  | 38       | 78       | 116           |



| <b>LV ENDOCARDIAL THICKENING</b> |           |           |               |
|----------------------------------|-----------|-----------|---------------|
| <b>HOLTER PVB &gt;500/24ORE</b>  | <b>0</b>  | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
| 0                                | 8         | 21        | 29            |
| 1                                | 8         | 62        | 70            |
| <b>Totale</b>                    | <b>16</b> | <b>83</b> | <b>99</b>     |

| <b>LV ENDOCARDIAL THICKENING</b> |           |           |               |
|----------------------------------|-----------|-----------|---------------|
| <b>ECHO LV DILATION</b>          | <b>0</b>  | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
| 0                                | 15        | 56        | 71            |
| 1                                | 2         | 43        | 45            |
| <b>Totale</b>                    | <b>17</b> | <b>99</b> | <b>116</b>    |

| <b>LV ENDOCARDIAL THICKENING</b> |           |           |               |
|----------------------------------|-----------|-----------|---------------|
| <b>EVM POSITIVE</b>              | <b>0</b>  | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
| 0                                | 10        | 19        | 29            |
| 1                                | 7         | 79        | 86            |
| <b>Totale</b>                    | <b>17</b> | <b>98</b> | <b>115</b>    |

| <b>LV FIBROADIPOSIS</b> |            |           |               |
|-------------------------|------------|-----------|---------------|
| <b>VT/VF</b>            | <b>0</b>   | <b>1</b>  | <b>Totale</b> |
| 0                       | 59         | 2         | 61            |
| 1                       | 46         | 9         | 55            |
| <b>Totale</b>           | <b>105</b> | <b>11</b> | <b>116</b>    |

**Tabelle di confronto tra le medie del diametro dei cardiomiociti e della quantità di fibrosi**

**DCM vs non DCM**

|                                  | <b>Gruppo</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Mediana</b> | <b>SD</b> | <b>SE</b> |
|----------------------------------|---------------|----------|--------------|----------------|-----------|-----------|
| LV MEAN CARDIO-MYOCITES DIAMETER | 0             | 92       | 20.3         | 20.00          | 4.28      | 0.447     |
|                                  | 1             | 24       | 22.9         | 23.50          | 3.83      | 0.782     |
| LV FIBROSIS/FIBROADIPOSI %       | 0             | 92       | 10.5         | 6.00           | 12.96     | 1.351     |
|                                  | 1             | 24       | 15.5         | 6.50           | 17.53     | 3.577     |

Test t a campioni indipendenti

|                                  |              | <b>Statistiche</b> | <b>gdl</b> | <b>p</b> |
|----------------------------------|--------------|--------------------|------------|----------|
| LV MEAN CARDIO-MYOCITES DIAMETER | t di Student | -2.68              | 114        | 0.008    |
| LV FIBROSIS/FIBROADIPOSI %       | t di Student | -1.56              | 114        | 0.120    |

Nota.  $H_a \mu_0 \neq \mu_1$ **ACM vs non ACM**

|                                  | <b>Gruppo</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Mediana</b> | <b>SD</b> | <b>SE</b> |
|----------------------------------|---------------|----------|--------------|----------------|-----------|-----------|
| LV MEAN CARDIO-MYOCITES DIAMETER | 0             | 84       | 20.5         | 20.00          | 4.41      | 0.481     |
|                                  | 1             | 32       | 21.7         | 21.50          | 3.97      | 0.702     |
| LV FIBROSIS/FIBROADIPOSI %       | 0             | 84       | 10.5         | 5.00           | 13.75     | 1.500     |
|                                  | 1             | 32       | 14.3         | 8.00           | 14.82     | 2.619     |

**ACM vs non ACM**

|                                  |              | <b>Statistiche</b> | <b>gdl</b> | <b>p</b> |
|----------------------------------|--------------|--------------------|------------|----------|
| LV MEAN CARDIO-MYOCITES DIAMETER | t di Student | -1.31              | 114        | 0.192    |
| LV FIBROSIS/FIBROADIPOSI %       | t di Student | -1.31              | 114        | 0.193    |

Nota.  $H_a \mu_0 \neq \mu_1$ 

Tabella di correlazione tra diagnosi clinica e alterazioni istologiche

Tabelle di Contingenza

| PRIMARY CLINICAL DIAGNOSIS |           | LV INFLAMMATION W NECROSIS |        |         |
|----------------------------|-----------|----------------------------|--------|---------|
|                            |           | 0                          | 1      | Totale  |
| 1 MYOCARDITIS              | Osservato | 36                         | 4      | 40      |
|                            | % di riga | 90.0 %                     | 10.0 % | 100.0 % |
| 2 LV ISOLATED SCAR         | Osservato | 18                         | 0      | 18      |
|                            | % di riga | 100.0 %                    | 0.0 %  | 100.0 % |
| 3 ACM                      | Osservato | 32                         | 0      | 32      |
|                            | % di riga | 100.0 %                    | 0.0 %  | 100.0 % |
| 5 DCM                      | Osservato | 24                         | 0      | 24      |
|                            | % di riga | 100.0 %                    | 0.0 %  | 100.0 % |
| Totale                     | Osservato | 110                        | 4      | 114     |
|                            | % di riga | 96.5 %                     | 3.5 %  | 100.0 % |

Tabelle di Contingenza

| PRIMARY CLINICAL DIAGNOSIS |           | LV CMP CHANGES |        |         |
|----------------------------|-----------|----------------|--------|---------|
|                            |           | 0              | 1      | Totale  |
| 1                          | Osservato | 18             | 22     | 40      |
|                            | % di riga | 45.0 %         | 55.0 % | 100.0 % |
| 2                          | Osservato | 7              | 11     | 18      |
|                            | % di riga | 38.9 %         | 61.1 % | 100.0 % |
| 3                          | Osservato | 9              | 23     | 32      |
|                            | % di riga | 28.1 %         | 71.9 % | 100.0 % |
| 5                          | Osservato | 4              | 20     | 24      |
|                            | % di riga | 16.7 %         | 83.3 % | 100.0 % |
| Totale                     | Osservato | 38             | 76     | 114     |
|                            | % di riga | 33.3 %         | 66.7 % | 100.0 % |

Tabelle di Contingenza

| PRIMARY CLINICAL DIAGNOSIS |           | LV FIBROSIS |        |         |
|----------------------------|-----------|-------------|--------|---------|
|                            |           | 0           | 1      | Totale  |
| 1                          | Osservato | 20          | 20     | 40      |
|                            | % di riga | 50.0 %      | 50.0 % | 100.0 % |
| 2                          | Osservato | 6           | 12     | 18      |
|                            | % di riga | 33.3 %      | 66.7 % | 100.0 % |
| 3                          | Osservato | 8           | 24     | 32      |
|                            | % di riga | 25.0 %      | 75.0 % | 100.0 % |
| 5                          | Osservato | 5           | 19     | 24      |
|                            | % di riga | 20.8 %      | 79.2 % | 100.0 % |
| Totale                     | Osservato | 39          | 75     | 114     |
|                            | % di riga | 34.2 %      | 65.8 % | 100.0 % |

Tabelle di Contingenza

| PRIMARY CLINICAL DIAGNOSIS |           | LV FIBROADIPOSIS |        |         |
|----------------------------|-----------|------------------|--------|---------|
|                            |           | 0                | 1      | Totale  |
| 1                          | Osservato | 35               | 5      | 40      |
|                            | % di riga | 87.5 %           | 12.5 % | 100.0 % |
| 2                          | Osservato | 17               | 1      | 18      |
|                            | % di riga | 94.4 %           | 5.6 %  | 100.0 % |
| 3                          | Osservato | 29               | 3      | 32      |
|                            | % di riga | 90.6 %           | 9.4 %  | 100.0 % |
| 5                          | Osservato | 22               | 2      | 24      |
|                            | % di riga | 91.7 %           | 8.3 %  | 100.0 % |
| Totale                     | Osservato | 103              | 11     | 114     |
|                            | % di riga | 90.4 %           | 9.6 %  | 100.0 % |

Tabelle di Contingenza

| <b>PRIMARY CLINICAL DIAGNOSIS</b> |           | <b>LV VACUOLISATIONS</b> |          |               |
|-----------------------------------|-----------|--------------------------|----------|---------------|
|                                   |           | <b>0</b>                 | <b>1</b> | <b>Totale</b> |
| 1                                 | Osservato | 28                       | 12       | 40            |
|                                   | % di riga | 70.0 %                   | 30.0 %   | 100.0 %       |
| 2                                 | Osservato | 13                       | 5        | 18            |
|                                   | % di riga | 72.2 %                   | 27.8 %   | 100.0 %       |
| 3                                 | Osservato | 27                       | 5        | 32            |
|                                   | % di riga | 84.4 %                   | 15.6 %   | 100.0 %       |
| 5                                 | Osservato | 10                       | 14       | 24            |
|                                   | % di riga | 41.7 %                   | 58.3 %   | 100.0 %       |
| Totale                            | Osservato | 78                       | 36       | 114           |
|                                   | % di riga | 68.4 %                   | 31.6 %   | 100.0 %       |

Tabelle di Contingenza

| <b>bipolar=1 unipolar=0</b> | <b>Endocardial thickening LV (0 no; 1 yes)</b> |          | <b>Totale</b> |
|-----------------------------|--|----------|---------------|
|                             | <b>0</b>                                       | <b>1</b> |               |
| 0                           | 0  | 14       | 14            |
| 1                           | 2  | 13       | 15            |
| Totale                      | 2  | 27       | 29            |

Tabelle di Contingenza

| <b>Endocardial thickening LV (0 no; 1 yes)</b> | <b>unipolar=1 bipolar=0</b> |          | <b>Totale</b> |
|--|-----------------------------|----------|---------------|
|  | <b>0</b>                    | <b>1</b> |               |
| 0  | 2                           | 0        | 2             |
| 1  | 13                          | 14       | 27            |
| Totale   | 15                          | 14       | 29            |

Tabelle di Contingenza

| <b>EVM bipolar +</b> | <b>LV ENDOCARDIAL THICKENING</b> |           | <b>Totale</b> |
|----------------------|----------------------------------|-----------|---------------|
|                      | <b>0</b>                         | <b>1</b>  |               |
| 0                    | 11                               | 35        | 46            |
| 1                    | 6                                | 63        | 69            |
| <b>Totale</b>        | <b>17</b>                        | <b>98</b> | <b>115</b>    |

Tabelle di Contingenza

| <b>EVM unipolar +</b> | <b>LV ENDOCARDIAL THICKENING</b> |           | <b>Totale</b> |
|-----------------------|----------------------------------|-----------|---------------|
|                       | <b>0</b>                         | <b>1</b>  |               |
| 0                     | 13                               | 33        | 46            |
| 1                     | 4                                | 65        | 69            |
| <b>Totale</b>         | <b>17</b>                        | <b>98</b> | <b>115</b>    |

Tabelle di Contingenza

| <b>LGE + subendocardic</b> | <b>LV FIBROSIS</b> |           | <b>Totale</b> |
|----------------------------|--------------------|-----------|---------------|
|                            | <b>0</b>           | <b>1</b>  |               |
| 0                          | 15                 | 26        | 41            |
| 1                          | 6                  | 15        | 21            |
| <b>Totale</b>              | <b>21</b>          | <b>41</b> | <b>62</b>     |

Tabelle di Contingenza

| <b>LGE+ transmural</b> | <b>LV FIBROSIS</b> |           | <b>Totale</b> |
|------------------------|--------------------|-----------|---------------|
|                        | <b>0</b>           | <b>1</b>  |               |
| 0                      | 18                 | 38        | 56            |
| 1                      | 3                  | 4         | 7             |
| <b>Totale</b>          | <b>21</b>          | <b>42</b> | <b>63</b>     |

Tabelle di Contingenza

| LGE+ subepicardic | LV FIBROSIS |    | Totale |
|-------------------|-------------|----|--------|
|                   | 0           | 1  |        |
| 0                 | 9           | 20 | 29     |
| 1                 | 12          | 22 | 34     |
| Totale            | 21          | 42 | 63     |

**LGE subepicardic vs else**

|                             |              | Statistiche       | gdl  | p     |
|-----------------------------|--------------|-------------------|------|-------|
| LV FIBROSIS/FIBROADIPOSIS % | t di Student | 1.71 <sup>a</sup> | 61.0 | 0.093 |

Nota.  $H_a \mu_0 \neq \mu_1$

**LGE transmural vs else**

|                             |              | Statistiche | gdl  | p     |
|-----------------------------|--------------|-------------|------|-------|
| LV FIBROSIS/FIBROADIPOSIS % | t di Student | -2.29       | 61.0 | 0.026 |

Nota.  $H_a \mu_0 \neq \mu_1$

**LGE subendocardic vs else**

|                             |              | Statistiche         | gdl  | p     |
|-----------------------------|--------------|---------------------|------|-------|
| LV FIBROSIS/FIBROADIPOSIS % | t di Student | -0.412 <sup>a</sup> | 60.0 | 0.682 |

**Unipolar positive EVM vs else**

|                             |              | Statistiche        | gdl | p     |
|-----------------------------|--------------|--------------------|-----|-------|
| LV FIBROSIS/FIBROADIPOSIS % | t di Student | -2.05 <sup>a</sup> | 113 | 0.042 |

Nota.  $H_a \mu_0 \neq \mu_1$

**Bipolar positive EVM vs else**

|                                  |                   | <b>Statistiche</b> | <b>gdl</b> | <b>p</b> |
|----------------------------------|-------------------|--------------------|------------|----------|
| LV FIBROSIS/FIBROADI-<br>POSIS % | t di Stu-<br>dent | -1.14              | 113        | 0.258    |

Nota.  $H_a \mu_0 \neq \mu_1$

**Unipolar vs Bipolar positive EVM**

|                                |                   | <b>Statistiche</b> |              | <b>gdl</b> | <b>p</b> |
|--------------------------------|-------------------|--------------------|--------------|------------|----------|
| Fibrosis LV % (or fibro-fatty) | t di Stu-<br>dent | -0.386             | <sup>a</sup> | 27.0       | 0.702    |

Nota.  $H_a \mu_0 \neq \mu_1$