

**Alma Mater Studiorum – Università di Bologna**

**DOTTORATO DI RICERCA IN**

**Fisiopatologia dell'insufficienza cardiaca**

**Ciclo XXIV**

**Settore Concorsuale di afferenza: 06/D1 Malattie dell'apparato cardiovascolare e  
malattie del'apparato respiratorio**

**Settore Scientifico disciplinare: MED 11 Malattie dell'apparato cardiovascolare**

**TITOLO TESI**

**Ruolo del test da sforzo cardiopolmonare nei pazienti affetti da  
Cardiomiopatia Ipertrofica in età pediatrica.**

**Presentata da: Dr. Paolo Ciliberti**

**Coordinatore Dottorato**

**Relatore**

**Chiar.mo Prof. Angelo Branzi**

**Chiar.mo Prof. Claudio Rapezzi**

**Esame finale anno 2012**

# Indice

<b><u>INDICE</u></b> .....	<b>2</b>
<b><u>RIASSUNTO</u></b> .....	<b>3</b>
INTRODUZIONE .....	3
METODI E RISULTATI .....	3
CONCLUSIONI.....	4
<b><u>INTRODUZIONE</u></b> .....	<b>5</b>
<b><u>MATERIALI E METODI</u></b> .....	<b>8</b>
PAZIENTI .....	8
VARIABILI CLINICHE E DEMOGRAFICHE.....	8
TEST DA SFORZO CARDIOPOLMONARE .....	8
STUDIO ECOCARDIOGRAFICO .....	10
ANALISI STATISTICA .....	11
<b><u>RISULTATI</u></b> .....	<b>13</b>
VARIABILI CLINICHE E DEMOGRAFICHE.....	13
VARIABILI ECOCARDIOGRAFICHE.....	14
TEST DA SFORZO CARDIOPOLMONARE .....	15
DETERMINANTI CLINICO/STRUMENTALI DEL PEAK VO <sub>2</sub> E DEI VALORI DI PRESSIONE SISTOLICA AL PICCO DELL'ESERCIZIO.....	16
OUTCOME.....	19
VALORE PREDITTIVO DEL TEST DA SFORZO CARDIOPOLMONARE .....	20
<b><u>DISCUSSIONE</u></b> .....	<b>23</b>
DETERMINANTI DELLA CAPACITÀ FUNZIONALE NEI PAZIENTI AFFETTI DA CMPI IN ETÀ PEDIATRICA .....	23
RUOLO DEL TEST DA SFORZO CARDIOPOLMONARE NELLA STRATIFICAZIONE PROGNOSTICA DEI PAZIENTI AFFETTI DA CMPI .....	25
<b><u>CONCLUSIONI</u></b> .....	<b>27</b>
<b><u>BIBLIOGRAFIA</u></b> .....	<b>28</b>

# Riassunto

## Introduzione

Una significativa porzione di pazienti affetti da cardiomiopatia ipertrofica (CMPI) può presentare una ridotta tolleranza allo sforzo. Non è quindi raro in questi pazienti il riscontro di un ridotto valore di consumo di ossigeno al picco dell'esercizio (peak VO<sub>2</sub>) e di una ridotta soglia anaerobica. Un anomalo incremento della pressione sistolica (< 20 mmHg) durante esercizio fisico si è inoltre rivelato essere uno dei fattori in grado di identificare i pazienti affetti da HCM in età adulta con un aumentato rischio di morte improvvisa.

Nonostante il test da sforzo (CPET) abbia quindi assunto un ruolo di fondamentale importanza nel work up diagnostico strumentale e nel follow-up dei pazienti affetti da CMPI, i dati sul suo ruolo in questo contesto in età pediatrica sono piuttosto limitati.

## Metodi e risultati

68 pazienti (età media  $13.9 \pm 2$  anni) affetti da CMPI sono stati sottoposti a CPET ed esame ecocardiografico completo nello stesso giorno. Il CPET è stato completato da tutti i pazienti senza nessuna complicanza di rilievo. Il valore medio di peak VO<sub>2</sub> raggiunto è stato pari  $31.4 \pm 8.3$  mL/Kg/min corrispondente al  $77.5 \pm 16.9$  % del teorico. 51 pazienti (75%) hanno raggiunto un valore subottimale di peak VO<sub>2</sub>.

All'analisi univariata il peak VO<sub>2</sub> raggiunto espresso come percentuale del teorico e la pressione arteriosa sistolica espressa come Z score al picco dell'esercizio, sono risultati direttamente correlati con le velocità dell'onda delle onde Ea e Sa; ed inversamente relate allo spessore ventricolare massimo e al rapporto E/Ea. Nessuna associazione è stata trovata con il grado di ostruzione all'efflusso ventricolare sinistro.

Durante un follow-up medio di  $2.16 \pm 1.7$  anni 9 pazienti hanno raggiunto l'end point clinico combinato (morte, trapianto, miectomia, scarica del defibrillatore, impianto del defibrillatore in prevenzione secondaria). I pazienti con peak VO<sub>2</sub> < 52% o con Z score della pressione arteriosa sistolica < -5.8 si sono dimostrati avere una minore sopravvivenza libera da eventi.

### **Conclusioni**

La capacità funzionale risulta diminuita nei pazienti affetti da CMPI in età pediatrica e la funzione ventricolare globale misurata con tecnica Tissue Doppler ne sembra essere il maggiore determinante. Il test da sforzo cardiopolmonare sembra in grado di poter giocare un ruolo nella stratificazione prognostica dei pazienti affetti.

## Introduzione

L'ultima classificazione delle cardiomiopatie proposta dalla Società Europea di Cardiologia<sup>1</sup> definisce la cardiomiopatia ipertrofica (CMPI) come una malattia primitiva del muscolo cardiaco caratterizzata da aumento degli spessori del ventricolo sinistro in assenza di condizioni potenzialmente determinanti ipertrofia ventricolare, quali valvulopatie o ipertensione arteriosa severa.

La Cardiomiopatia ipertrofica può interessare qualsiasi fascia di età, e con una prevalenza pari allo 0.2% nella popolazione generale<sup>2,3</sup> rappresenta la più frequente patologia cardiovascolare geneticamente determinata, e la più frequente causa di morte improvvisa tra i giovani al di sotto dei 30 anni di età e tra gli atleti<sup>4,5</sup>.

Nella maggior parte dei casi l'ipertrofia del ventricolo sinistro è asimmetrica, interessa cioè in modo preponderante il setto interventricolare e in misura minore la parete libera del ventricolo sinistro, meno frequentemente ha una distribuzione uniforme nel ventricolo sinistro (ipertrofia concentrica), mentre in una piccola percentuale di pazienti l'ipertrofia può essere predominante a livello dell'apice del cuore<sup>6</sup>.

La patologia è ereditaria a trasmissione autosomica dominante a penetranza incompleta, provocata dalla mutazione di geni codificanti per le proteine del sarcomero, con circa 13 geni responsabili attualmente identificati.

In età pediatrica alle forme "tradizionali sarcomeriche", vanno inoltre aggiunte anche disordini metabolici, patologie da accumulo o quadri sindromici geneticamente determinati, con caratteristica ipertrofia ventricolare sinistra o bi ventricolare in assenza di altra cardiopatia. Tra queste le più comuni risultano essere la Malattia di Fabry, la sindrome di Danon, la sindrome di Pompe e l'ipertrofia ventricolare sinistra nei pazienti affetti da

sindrome di Noonan<sup>7</sup>. Sebbene in questo caso non sia corretto parlare di cardiomiopatia ipertrofica, in alcuni casi in assenza di altro interessamento, il quadro clinico può essere del tutto sovrapponibile a quello delle forme tradizionali sarcomeriche, e questi pazienti risultano essere tradizionalmente seguiti dal punto di vista cardiologico nei centri dedicati allo studio e alla cura della CMPI in età pediatrica.

Oltre che per questa eterogeneità fenotipica e genotipica la CMPI si caratterizza anche per una elevata variabilità fisiopatologica<sup>4,8</sup>, e può quindi presentare un ampio spettro di possibili quadri clinici. Sebbene infatti in molti casi la malattia possa avere un decorso favorevole in assenza di sintomi o complicanze considerevoli, una significativa porzione di pazienti può presentare una ridotta tolleranza allo sforzo. Non è quindi raro in questi pazienti il riscontro di un ridotto valore di consumo di ossigeno al picco dell'esercizio (peak VO<sub>2</sub>) e di una ridotta soglia anaerobica<sup>9,10,11,12</sup>.

Diversi meccanismi come l'evidenza di una significativa ostruzione all'efflusso ventricolare, di un importante grado di rigurgito mitralico, della presenza di disfunzione diastolica del ventricolo sinistro o la presenza di ischemia sub-endocardica o di aritmie, sono stati chiamati in causa come possibile causa della ridotta tolleranza allo sforzo<sup>10,11,13,14</sup>.

La mortalità complessiva riportata dai principali centri è dell'ordine del 3% l'anno<sup>15</sup>, e la morte improvvisa si rivela essere la principale causa di decesso nelle casistiche riportate<sup>15,16</sup>. Diversi fattori clinici e strumentali si sono rivelati utili nell'identificazione dei pazienti con un aumentato rischio di morte improvvisa, tra cui l'anomalo incremento della pressione sistolica (< 20 mmHg) durante esercizio fisico<sup>17,18,19</sup>, soprattutto nei pazienti con età inferiore ai 40 anni e nei soggetti con storia familiare di morte improvvisa. Il test da sforzo nei pazienti affetti da CMPI si è rivelato quindi utile anche nel determinare la

presenza di un alterata risposta pressoria durante sforzo, nell'ambito della stratificazione prognostica dei pazienti affetti.

Nonostante quindi il test da sforzo abbia assunto un ruolo di fondamentale importanza nel work up diagnostico strumentale e nel follow-up dei pazienti affetti da CMPI, i dati sul suo ruolo in questo contesto in età pediatrica sono piuttosto limitati<sup>20,21,22</sup>.

Lo scopo di questo studio è stato quindi quello di analizzare in dettaglio tutti i principali determinanti del test da sforzo cardiopolmonare in un ampia casistica di soggetti affetti da cardiomiopatia ipertrofica in età pediatrica, e di determinare se come già in altri contesti<sup>23</sup> questo possa rappresentare un utile strumento di stratificazione prognostica.

# **Materiali e metodi**

## **Pazienti**

Tutti i pazienti con diagnosi di cardiomiopatia ipertrofica seguiti clinicamente presso il Great Ormond Street Hospital di Londra, e sottoposti tra il Marzo 2004 e l'Agosto 2010 a test da sforzo cardiopolmonare sono stati identificati. La diagnosi di cardiomiopatia ipertrofica si è basata sull'evidenza di ipertrofia miocardica (Z score dello spessore della parete miocardica > 2) in assenza di altre cause in grado di produrre tale quadro<sup>1</sup>.

I pazienti con ipertrofia ventricolare sinistra non addebitabile a mutazione dei geni per le proteine del sarcomero, con diagnosi genetica accertata, sono stati esclusi nel caso fosse associata altra patologia cardiaca o nel caso fosse presente interessamento extracardiaco determinante ridotta capacità funzionale.

## **Variabili cliniche e demografiche**

Le variabili demografiche e cliniche al momento dell'esecuzione del test da sforzo sono state raccolte dal database clinico del Great Ormond Street Hospital di Londra. Tali variabili comprendevano la storia clinica e anamnestica, le caratteristiche genotipiche, fenotipiche, fiso patologiche e le terapie in corso al momento dell'esecuzione del test.

## **Test da sforzo cardiopolmonare**

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a test da sforzo cardiopolmonare massimale utilizzando un protocollo a rampa con carico di lavoro variabile ed incrementi tra i 5W e i 20W, tale da permettere il completamento dell'esercizio tra i 10 e i 12 minuti. I criteri utilizzati per l'interruzione del test sono stati la



presenza di esaurimento muscolare associato al raggiungimento di un quoziente respiratorio (RER)  $\geq 1.09$ .

Il consumo di ossigeno ( $\dot{V}O_2$ ), l'anidride carbonica espirata ( $\dot{V}CO_2$ ), e la ventilazione per minuto (VE) sono state misurate continuamente utilizzando un sistema computerizzato breath-by-breath (Medgraphic, St. Paul, MN). Il tracciato ECG a 12 derivazioni e la saturazione di ossigeno arteriosa periferica sono stati continuamente monitorati durante tutta la durata del test.

La pressione arteriosa è stata misurata con metodica non invasiva ogni 2 minuti mediante l'utilizzo di un bracciale di taglia appropriata posizionato a livello del braccio destro.

Il  $\dot{V}O_2$  al picco dell'esercizio e l'equivalente ventilatorio per unità di anidride carbonica espirata (VE/ $\dot{V}CO_2$  slope) sono stati calcolati come precedentemente pubblicato in letteratura<sup>24</sup>.

La frequenza cardiaca di base è stata misurata dopo almeno 2 minuti di riposo in posizione seduta mentre la frequenza cardiaca massima è stata definita come il massimo valore di frequenza cardiaca raggiunto durante l'esercizio. L'incompetenza cronotropa è stata definita come una frequenza massima  $< 85\%$  della frequenza massima predetta, calcolata per ogni paziente utilizzando la formula di Astrand  $(220 - \text{età})$ <sup>25</sup>.

Le equazioni di Wasserman sono state usate per generare i valori predetti dei parametri respiratori e metabolici analizzati<sup>26</sup>.

A causa dell'ampia variabilità in relazione all'età dei valori di peak  $\dot{V}O_2$  se espresso in millimetri/kg/min in un'ampia popolazione di pazienti in età pediatrica, i valori di peak  $\dot{V}O_2$  sono stati espressi come percentuale del valore predetto in base a sesso ed età<sup>27</sup>.

I valori di Z score per le misurazioni di pressione arteriosa sistolica al picco dell'esercizio (peak SBP) sono stati calcolati secondo l'equazione di Alpert<sup>28</sup>.

## **Studio ecocardiografico**

Lo stesso giorno del test da sforzo polmonare tutti i pazienti sono stati sottoposti ad esame ecocardiografico completo con metodiche M-mode, bidimensionale, Doppler e Tissue Doppler. Il massimo spessore ventricolare sinistro è stato valutato nella proiezione asse corto bidimensionale, dividendo il ventricolo sinistro in 4 segmenti (setto anteriore, setto posteriore, parete laterale, parete posteriore) sia a livello della valvola mitrale che dei muscoli papillari, e misurando lo spessore massimo in ognuno dei 4 segmenti analizzati<sup>29</sup>. La distribuzione dell'ipertrofia è stata categorizzata in concentrica/eccentrica. I valori dei diametri tele-diastolici e tele-sistolici del ventricolo sinistro, così come lo spessore del setto interventricolare e della parete posteriore e la frazione di accorciamento (FS) del ventricolo sinistro sono stati ottenuti dallo studio monodimensionale (MMODE) secondo le raccomandazioni della società Americana di ecocardiografia<sup>30</sup>.

I diametri atriali sono stati ottenuti come metodica MMODE secondo le raccomandazioni della società Americana di ecocardiografia e la frazione d'accorciamento atriale è stata calcolata come precedentemente descritto da Briguori et al<sup>31</sup>.

Il gradiente all'efflusso sinistro e destro è stato ottenuto mediante tecnica doppler continua, usando l'equazione di continuità secondo la metodica di Bernoulli, ponendo attenzione in caso di presenza di rigurgito mitralico a non campionare il jet di insufficienza valvolare<sup>32</sup>.

La presenza e la severità del rigurgito mitralico è stata determinata in accordo con le raccomandazioni della società americana di ecocardiografia<sup>33</sup>. Le curve di velocità trans-mitralica sono state ottenute con Doppler pulsato posizionando il repere a livello dell'anello mitralico tra i due lembi valvolari, in proiezione 4 camere apicale, misurando il picco di velocità delle onde E (riempimento rapido ventricolare) ed A (contrazione atriale), il tempo di decelerazione del flusso di riempimento

rapido trans-mitralico, il rapporto tra onda E ed onda A e la durata dell'onda A.

Le velocità miocardiche sistolica (Sa), proto diastolica (Ea) e durante la contrazione atriale (Aa), sono state ottenute con metodica Tissue Doppler a livello dell'anello mitralico sia in corrispondenza della parete settale che laterale, e a livello dell'anello tricuspidalico in corrispondenza della parete libera del ventricolo destro<sup>34,35</sup>. I valori del rapporto E/Ea sono stati calcolati per ogni paziente.

### **Analisi statistica**

La distribuzione dei dati è stata testata con il test di Shapiro-Wilk. Le variabili continue normalmente distribuite sono state espresse come media  $\pm$  DS. Le variabili categoriche sono state riportate come numero assoluto e percentuale.

L'analisi univariata tra i valori di peak VO<sub>2</sub> e peak SBP tra i pazienti divisi in base alle variabili categoriche è stato eseguito mediante test-t per dati non appaiati e analisi della varianza.

L'associazione tra le variabili continue e i valori di peak VO<sub>2</sub> e peak SBP è stata studiata mediante analisi di correlazione lineare bivariata. La correlazione tra i vari parametri è stata stimata mediante il test di correlazione di Pearson.

Le curve di sopravvivenza secondo Kaplan-Meier sono state quindi costruite per analizzare la distribuzione degli eventi (morte, trapianto cardiaco, miectomia, impianto del defibrillatore in prevenzione secondaria, shock erogato dal defibrillatore in caso di pregresso impianto) nel corso del follow-up nei pazienti con valore di peak VO<sub>2</sub> e di peak SBP Z score superiore vs. inferiore al valore identificato.

Tali cut off sono stati identificati mediante analisi ROC utilizzando il valore di peak VO<sub>2</sub> e peak SBP Z score dotato della più alta specificità e sensibilità nell'individuare i pazienti a rischio di eventi negli anni successivi al test cardiopolmonare.

Un valore dell'errore  $\alpha \leq 0.05$  e' stato stabilito come criterio di significatività statistica

# Risultati

## Variabili cliniche e demografiche

Sessantotto pazienti in età pediatrica sono stati valutati durante lo studio, con un età media di  $13.9 \pm 2$  anni. La percentuale di pazienti di sesso maschile è risultata pari al 65% (44 pazienti). In 40 pazienti (59%) era presente una storia di familiarità per cardiomiopatia ipertrofica, e in 20 (29%) era presente familiarità per morte cardiaca improvvisa all'anamnesi familiare.

Il 53% dei pazienti (36 soggetti) stava assumendo farmaci al momento del test da sforzo (beta bloccanti in 28 pazienti, Disopiramide in 13 pazienti, calcio-antagonisti in 8 pazienti, Amiodarone in 1 paziente). 8 pazienti (12%) presentavano una diagnosi di ipertrofia ventricolare sinistra associata ad altra sindrome (6 pz sindrome di Noonan, 1 pz Sindrome di Leopard, 1 pz sindrome di Danon). 14 pazienti (20%) risultavano essere stati precedentemente sottoposti ad impianto di cardioverter defibrillatore.

Le variabili cliniche e demografiche della popolazione studiata sono evidenziate in tabella 1.

**Tabella 1.**

	<b>Patients, n = 68</b>
<b>Sesso maschile, n (%)</b>	44 (65%)
<b>Età, anni</b>	$13.9 \pm 2$
<b>Altezza, cm</b>	$160 \pm 13.2$
<b>Peso, Kg</b>	$54.7 \pm 12.8$
<b>BSA</b>	$1.6 \pm 0.2$
<b>Familiarità per HCM, n (%)</b>	40 (59%)
<b>Storia familiare per SD, n (%)</b>	20 (29%)
<b>Sindrome, n</b>	8 (12%)
- Noonan	6
- Leopard	1
- Danon	1

<b>Terapia medica, n (%)</b>	36 (53%)
-Beta bloccanti	28 (41%)
-Disopiramide	13 (19%)
-Amiodarone	1 (1%)
-Calcio antagonisti	8 (12%)

### **Variabili ecocardiografiche**

Dal punto di vista ecocardiografico il valore medio di spessore ventricolare sinistro nella popolazione studiata è risultato pari a  $19.8 \pm 7.4$ , con una prevalenza (52 pazienti, 76%) di distribuzione eccentrica dell'ipertrofia. 37 (54%) pazienti mostravano un movimento sistolico anteriore della valvola mitrale e il gradiente medio di ostruzione all'efflusso sinistro è risultato pari a  $28 \pm 38$  mmHg. La frazione d'eiezione media del ventricolo sinistro è risultata pari a  $73.3\% \pm 8.2$ . 30 pazienti (44%) mostravano l'assenza di rigurgito mitralico, 30 pazienti (44%) risultavano avere un grado di rigurgito mitralico minimo/lieve e otto pazienti (12%) un grado di rigurgito mitralico moderato. L'analisi sistematica dei parametri ecocardiografici è visualizzabile nella tabella 2.

**Tabella 2**

	<b>Patients, n = 68</b>
<b>Massimo spessore V sn, mm</b>	$19.8 \pm 7.4$
<b>Distribuzione eccentrica dell'ipertrofia, n (%)</b>	52 (76%)
<b>FE Vsn, %</b>	$73.3 \pm 8.2$
<b>SAM, n (%)</b>	37 (54%)
<b>Insufficienza mitralica</b>	
• Assente	30 (44%)
• Lieve	30 (44%)
• Moderata	8 (12%)

<b>LVOT gradient, mmHg</b>	28.3 ± 38.3
<b>E wave vel, m/s</b>	0.8 ± 0.3
<b>A wave vel, m/s</b>	0.5 ± 0.1
<b>E/A ratio</b>	1.9 ± 0.7
<b>septal Sa wave, m/s</b>	0.07 ± 0.02
<b>septal Ea wave, m/s</b>	0.09 ± 0.03
<b>septal Aa wave, m/s</b>	0.06 ± 0.02
<b>septal E/Ea ratio</b>	9.8 ± 6.4
<b>lateral Sa wave, m/s</b>	0.1 ± 0.03
<b>lateral Ea wave, m/s</b>	0.15 ± 0.05
<b>lateral Aa wave, m/s</b>	0.06 ± 0.02
<b>lateral E/Ea ratio</b>	5.1 ± 0.9
<b>End systolic LA diameter, mm</b>	34.9 ± 6
<b>End diastolic LA diameter, mm</b>	26.2 ± 5.5
<b>syst/diast LA diameter ratio</b>	1.4 ± 0.1
<b>RVOTO, n (%)</b>	1 (14%)

### **Test da sforzo cardiopolmonare**

Il test da sforzo cardiopolmonare è stato completato da tutti i pazienti senza significativi eventi avversi. Il carico di lavoro medio raggiunto dalla popolazione studiata è risultato pari a 138 ± 70.3 W e il quoziente respiratorio medio è stato pari a 1.13 ± 0.09. Il valore medio di peak VO<sub>2</sub> raggiunto è risultato pari a 31.4 ± 8.3 mL/Kg/min corrispondente al 77.5 ± 16.9 % del predetto per età e sesso. 51 pazienti (75%) hanno mostrato un peak VO<sub>2</sub> sottomassimale (<85%). La pressione arteriosa sistolica al picco dello sforzo è risultata pari a 140.8 ± 29.3 mmHg, corrispondente ad uno Z score pari a -1.3 ± 4.2. In 43 pazienti (63%) si è evidenziato un incremento dei valori di pressione arteriosa sistolica anomalo (Z score < 2) e in 29

pazienti (43%) l'aumento è risultato minore di 20 mmHg. Il valore medio di VE/VCO<sub>2</sub> slope è risultato pari a 29.5 ± 5.1. I risultati completi dell'analisi dei test da sforzo cardiopolmonare sono mostrati in tabella 3.

**Tabella 3**

	<b>Patients, n =68</b>
<b>Peak work, W</b>	138 ± 70.3
<b>Peak RER</b>	1.13 ± 0.09
<b>Peak VO<sub>2</sub>/work slope, mL/min/W</b>	9.6 ± 2.8
<b>Peak VO<sub>2</sub>, mL/Kg/min</b>	31.4 ± 8.3
<b>Peak VO<sub>2</sub>, %</b>	77.5 ± 16.9
<b>Peak HR, bpm</b>	170.1 ± 18.7
<b>Peak HR, %</b>	90 ± 10
<b>Baseline SBP, mmHg</b>	109.3 ± 8.6
<b>Peak SBP, mmHg</b>	140.8 ± 29.3
<b>Z score peak SBP</b>	-1.3 ± 4.2
<b>SBP increase &lt; 20 mmHg, n(%)</b>	29 (43%)
<b>SBP change, mmHg</b>	31.5 ± 24.7
<b>VE/VCO<sub>2</sub> slope</b>	29.5 ± 5.1

### **Determinanti clinico/strumentali del peak VO<sub>2</sub> e dei valori di pressione sistolica al picco dell'esercizio**

All'analisi univariata i valori di peak VO<sub>2</sub> espressi come percentuale del valore teorico si sono mostrati essere inversamente associati con lo spessore massimo parietale del ventricolo sinistro (r = -0.33, p 0.006), con il rapporto E/Ea settale (r = 0.406, p = 0.001) e con i valori di E/Ea laterale (r = -0.29, p 0.027); e direttamente associati con i valori di velocità delle onde Sa, Ea e Aa settali e con le velocità delle onde Sa ed Ea a livello della parete laterale dell'anello mitralico.



Nessuna correlazione si è notata per quanto riguarda i valori di gradiente all'efflusso del ventricolo sinistro, di frazione d'eiezione e per la presenza di quadro sindromico associato. I valori di Z score del peak SBP oltre a risultare associati a tutte le stesse variabili rivelatesi relate al peak VO2, sono inoltre risultati associati ai valori della frazione d'accorciamento atriale sinistra, e inversamente proporzionali ai valori di diametro tele diastolico atriale sinistro.

Sia i valori di peak Vo2 che quelli dello Z score del peak SBP sono inoltre risultati statisticamente differenti nei pazienti in terapia rispetto ai pazienti senza alcun trattamento medico.

L'analisi multivariata completa è mostrata nelle tabelle 4 e 5.

**Tabella 4.**

	<b>Peak VO2</b>	<b>Z score peak SBP</b>
<b>Spessore V sn</b>		
r	<b>-0.33</b>	<b>-0.208</b>
p	<b>0.006</b>	<b>0.09</b>
<b>FE Vsn</b>		
r	0.102	0.506
p	0.408	0.655
<b>LVOT gradient</b>		
r	-0.132	-0.111
p	0.284	0.375
<b>E wave vel</b>		
r	0.012	0.088
p	0.922	0.490
<b>A wave vel</b>		
r	0.076	-0.212
p	0.546	0.093
<b>E/A ratio</b>		
r	-0.09	0.244
p	0.94	0.052
<b>End syst LA diam</b>		
r	-0.176	-0.170
p	0.154	0.175
<b>End diast LA diam</b>		
R	-0.169	<b>-0.269</b>
p	0.206	<b>0.045</b>

<b>Syst/diast LA diam</b>		
<b>ratio</b>	0.121	<b>0.361</b>
r	0.365	<b>0.006</b>
p		
<b>Septal Sa wave</b>		
r	<b>0.418</b>	<b>0.339</b>
p	<b>0.001</b>	<b>0.01</b>
<b>Septal Ea wave</b>		
r	<b>0.495</b>	<b>0.535</b>
p	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Septal Aa wave</b>		
r	<b>0.315</b>	<b>0.331</b>
p	<b>0.014</b>	<b>0.011</b>
<b>E/Ea septal</b>		
r	<b>-0.406</b>	<b>-0.279</b>
p	<b>0.001</b>	<b>0.034</b>
<b>Lateral Sa wave</b>		
r	<b>0.398</b>	<b>0.568</b>
p	<b>0.002</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Lateral Ea wave</b>		
r	<b>0.358</b>	<b>0.477</b>
p	<b>0.006</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Lateral Aa wave</b>		
r	0.068	-0.085
p	0.621	0.541
<b>E/Ea lateral</b>		
r	<b>-0.290</b>	<b>-0.357</b>
p	<b>0.027</b>	<b>0.007</b>

**Tabella 5.**

	<b>Pz in terapia (n=36)</b>	<b>Pz no terapia (n=32)</b>	<b>p</b>
<b>Peak Vo2</b>	65.2 ± 18.9	79.8 ± 15.6	<b>0.001</b>
<b>Peak SBP Z score</b>	-0.73 ± 4.5	-4.39 ± 3.5	<b>&lt;0.001</b>
	<b>Famil HCM (n=40)</b>	<b>Non Famil HCM (n=28)</b>	
<b>Peak Vo2</b>	75.3 ± 19.7	67.4 ± 16.6	0.87
<b>Peak SBP Z score</b>	-2.4 ± 4.3	-2.9 ± 4.5	0.67
	<b>Hystory of SD (n=20)</b>	<b>No history of SD (n=48)</b>	
<b>Peak Vo2</b>	75.6 ± 19.7	70.5 ± 18.3	0.35
<b>Peak SBP Z score</b>	-2.09 ± 4.5	-2.83 ± 4.4	0.54
	<b>Sindrome (n= 8)</b>	<b>No syndrome (n=60)</b>	
<b>Peak Vo2</b>	78.1 ± 22.5	71.6 ± 18.2	0.36
<b>Peak SBP Z score</b>	-2.8 ± 4.9	-2.6 ± 4.4	0.94
	<b>Distrib eccentric (n = 52)</b>	<b>Distrib concentrica (n = 16)</b>	
<b>Peak Vo2</b>	<b>71.7 ± 20.3</b>	<b>73.1 ± 12.8</b>	0.07
<b>Peak SBP Z score</b>	<b>-3.1 ± 4</b>	<b>-0.8 ± 5.2</b>	0.79

### **Outcome**

Il follow-up e' risultato completo per tutti i pazienti. Durante un periodo di follow up medio di 2.16 ± 1.7 anni, 9 pazienti (14%) hanno raggiunto l'end-point combinato (morte, trapianto, miectomia, shock appropriato del defibrillatore, impianto del defibrillatore in prevenzione secondaria).

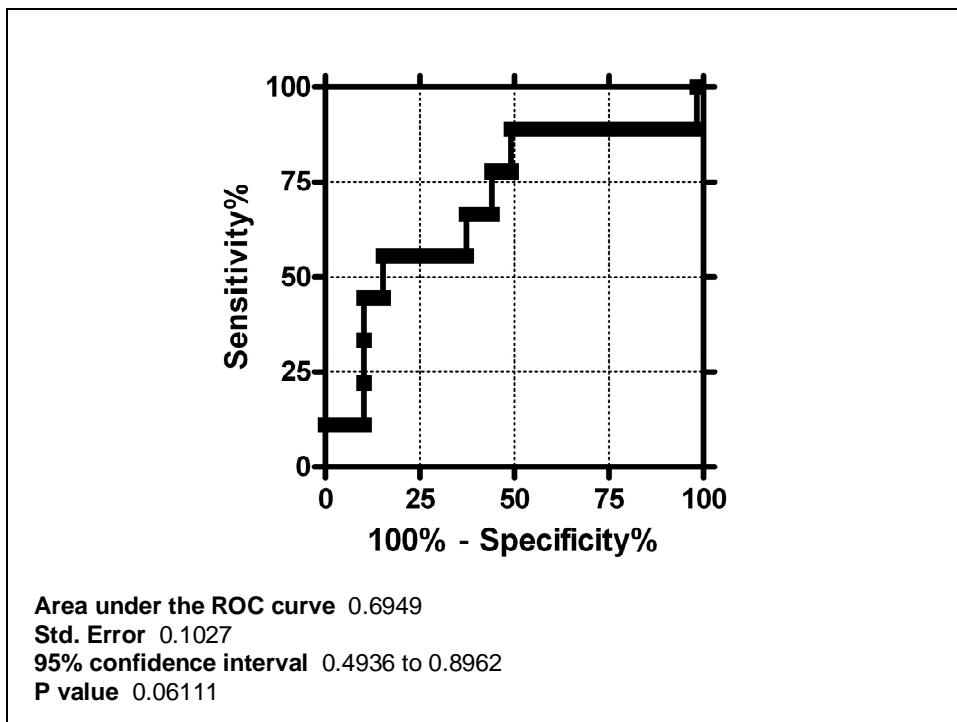
In dettaglio, 1 pazienti è deceduto, 3 pazienti sono stati sottoposti a trapianto cardiaco, 3 pazienti sono stati sottoposti a miectomia e 2 pazienti hanno ricevuto una scarica appropriata del defibrillatore.

### **Valore predittivo del test da sforzo cardiopolmonare**

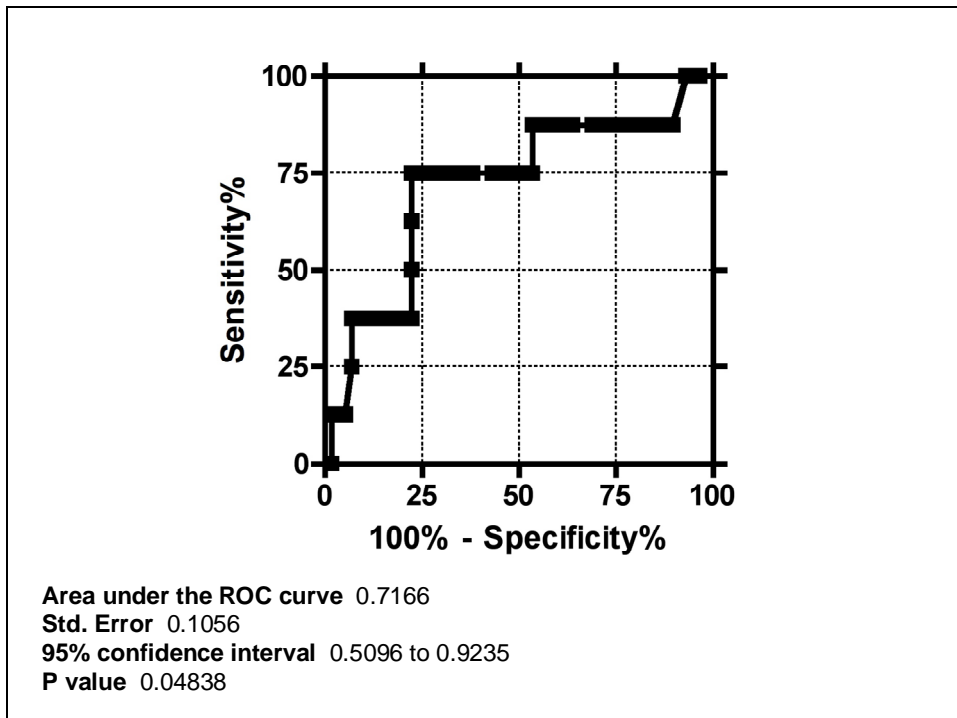
Mediante analisi ROC (figure 1 e 2) si è dimostrato che i valori di peak VO<sub>2</sub> pari a 52% del predetto e di Z score per il peak SBP pari a -5.8 presentavano la più alta sensibilità e specificità nel predire il raggiungimento dell'end point combinato per ognuna delle due variabili.

Dall'analisi di sopravvivenza (figura 3) risulta evidente come i pazienti con peak VO<sub>2</sub> < 52% presentano un rischio più alto di raggiungimento dell'end point combinato (HR 0.1571; IC al 95% 0.009331 - 0.3264) rispetto ai pazienti con peak VO<sub>2</sub> > 52% del predetto (log rank test p = 0.0042).

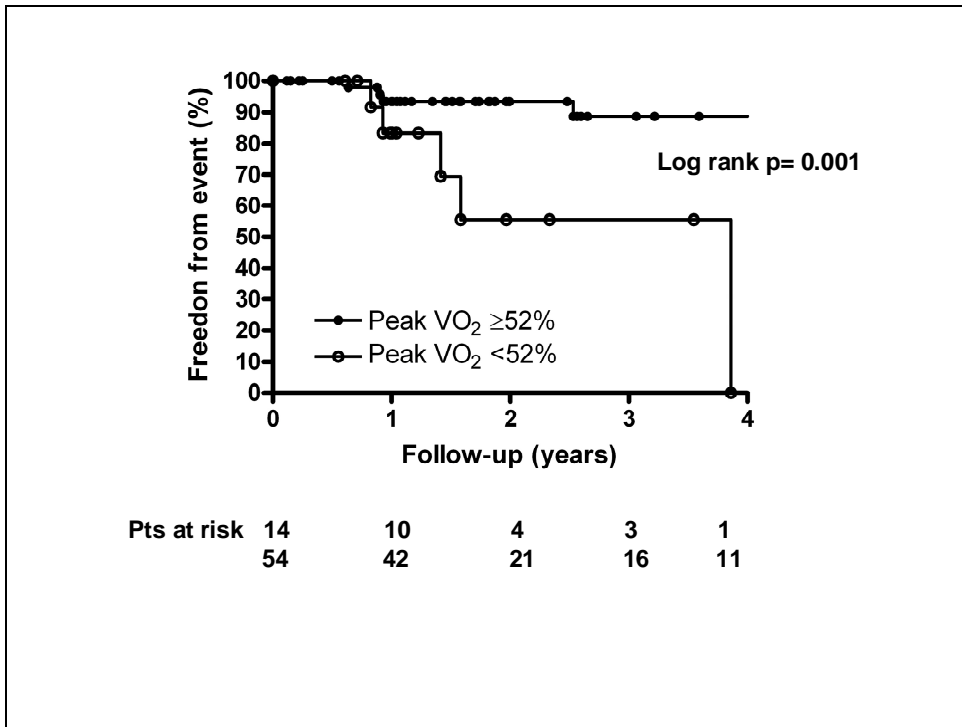
Per quanto riguarda i valori di Z score per il peak SBP (figura 4), il valore di - 5.8 si è mostrato in grado di differenziare i pazienti a più elevato rischio dell'end point combinato combinato (HR 0.1373; IC al 95% 0.02306 - 0.4932; Log rank p = 0.0042).



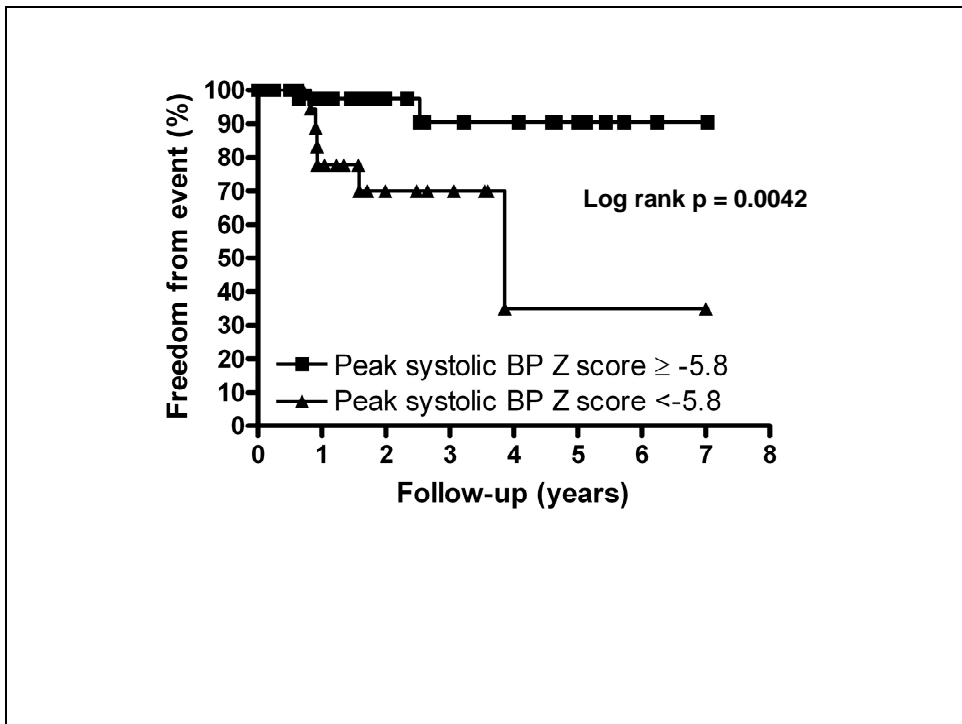
**Figura 1. Curva dell'analisi ROC per i valori di peak VO2 e l'end point combinato (morte, trapianto, shock appropriato del defibrillatore, impianto del defibrillatore in prevenzione secondaria, miectomia).**



**Figura 2. Curva dell'analisi ROC per i valori di Z score per il peak SBP e l'end point combinato (morte, trapianto, shock appropriato del defibrillatore, impianto del defibrillatore in prevenzione secondaria, miectomia).**



**Figura 3. Analisi della sopravvivenza libera da eventi nei due gruppi di pazienti stratificati in base al valore di peak Vo2 < 52% del teorico o > 52 % del teorico.**



**Figura 4. Analisi della sopravvivenza libera da eventi nei due gruppi di pazienti stratificati in base al valore di Z score per il peak Vo2 < - 5.8 o > 5.8.**

## Discussione

Il nostro studio in sintesi dimostra come la capacità funzionale sia ridotta nei pazienti con cardiomiopatia ipertrofica in età pediatrica (75% dei pazienti con valore di peak VO<sub>2</sub> < 85%) in maniera non correlabile alla presenza di ostruzione all'efflusso ventricolare sinistro, del valore di frazione d'eiezione calcolato con metodica bidimensionale o monodimensionale o di rigurgito mitralico; e come invece la funzione ventricolare globale (sistolica e diastolica) misurata mediante tecnica Tissue Doppler sembri essere il principale determinante della capacità funzionale in questi pazienti.

Come già inoltre in altri contesti<sup>23</sup> in età pediatrica inoltre il test da sforzo si è rivelato essere un utile strumento di stratificazione prognostica nel determinare i pazienti a più elevato rischio di eventi cardiovascolari.

### **Determinanti della capacità funzionale nei pazienti affetti da CMPI in età pediatrica**

Diversi studi condotti su pazienti affetti da CMPI hanno dimostrato una correlazione tra la portata cardiaca e il peak VO<sub>2</sub><sup>9,36</sup>, ed è stato evidenziato come il più importante fattore implicato nell'aumento dello stroke volume durante esercizio fisico sia la capacità di incremento del volume tele diastolico ventricolare sinistro<sup>14</sup>.

Nei pazienti affetti da CMPI tutte le fasi del ciclo diastolico risultano essere anomale<sup>37</sup>, determinando così una limitata capacità di aumento del diametro ventricolare sinistro, specialmente in condizioni quali lo stress fisico in cui il tempo di riempimento si va ad accorciare per l'aumento della frequenza cardiaca.

La funzione diastolica nei pazienti affetti da CMPI è stata studiata con numerose metodiche, invasive e non invasive, tra

cui il cateterismo cardiaco e l'ecocardiografia<sup>20,38</sup> e la sua importanza in questo setting è stata evidenziata anche dal punto di vista clinico e prognostico<sup>39</sup>. Nonostante ciò la diagnosi di disfunzione diastolica continua ad essere piuttosto complessa nei pazienti affetti da cardiomiopatia ipertrofica. Il confronto diretto delle pressioni endocavitarie misurate mediante cateterismo cardiaco e le velocità del pattern di riempimento trans-mitralico non ha mostrato una significativa correlazione come in altre patologie<sup>40</sup>, probabilmente a causa della stretta dipendenza di tali velocità dalle condizioni di carico volumetrico<sup>41</sup> del ventricolo. Tali parametri non possono quindi essere utilizzati per stimare con affidabilità la funzione diastolica in questi pazienti<sup>42</sup>.

Probabilmente a causa di questo stesso meccanismo sono sempre falliti i tentativi di identificazione di una relazione tra le velocità di riempimento trans mitralico e la capacità di esercizio nei pazienti affetti da CMPI<sup>22,43</sup>.

La metodica Tissue doppler al contrario si caratterizza per la relativa indipendenza dalle condizioni di carico e le velocità miocardiche misurate in questo maniera si sono mostrate essere relate con la capacità di esercizio e la prognosi in questi pazienti<sup>21,42</sup>.

Il nostro studio conferma tale rilievo, mostrando una forte relazione tra i parametri di funzione diastolica misurati al Tissue doppler (rapporto E/Ea settale e laterale e velocità dell'onda Ea settale e laterale) e i valori di peak Vo2 e di Z score per il peak SBP, confermando quindi una stretta relazione tra la funzione diastolica e la capacità di incremento della portata cardiaca sotto sforzo in questi pazienti, e confermando inoltre l'affidabilità della metodica Tissue Doppler nello studio della funzione diastolica in questo particolare setting.

I dati sulla centralità della funzione diastolica nell'incremento della portata cardiaca durante esercizio sono confermati anche dalla correlazione del diametro atriale sinistro e della frazione



d'accorciamento atriale con i valori di picco della pressione arteriosa, già rilevata anche nella popolazione adulta<sup>10</sup>.

La correlazione tra peak VO<sub>2</sub> e peak SBP con l'onda S<sub>a</sub> mostra inoltre come la funzione sistolica longitudinale possa essere affetta nei pazienti affetti da CMPI anche nei soggetti che presentano valori di frazione d'eiezione nei limiti della norma e come questa sia un importante parametro prognostico e funzionale. Tali rilievi sottolineano inoltre l'importanza del Tissue doppler anche nello studio della funzione sistolica ventricolare.

Anche la correlazione tra lo spessore ventricolare sinistro e la capacità funzionale sembra confermare come il più importante determinante clinico-funzionale nei pazienti affetti da CMPI in età pediatrica sia proprio rappresentato dalla funzione ventricolare globale e "dallo stato di salute del ventricolo" più che da altri possibili meccanismi fisiopatologici.

### **Ruolo del test da sforzo cardiopolmonare nella stratificazione prognostica dei pazienti affetti da CMPI**

Il nostro studio mostra inoltre come il test da sforzo cardiopolmonare possa giocare un utile ruolo nella stratificazione prognostica dei pazienti affetti.

La CMPI infatti pur caratterizzandosi in molti casi per un decorso benigno può presentare numerose complicanze e la stratificazione prognostica già difficile nella popolazione adulta è particolarmente difficile in età pediatrica.

I grandi sforzi profusi dalla comunità scientifica nell'identificazione dei fattori di rischio per la stratificazione prognostica della morte improvvisa, hanno portato ad identificare alcune condizioni ad elevato rischio di morte cardiaca inaspettata<sup>18</sup>. Alcuni di questi fattori però il valore di spessore ventricolare sinistro o l'anomala risposta pressoria allo sforzo risultano difficilmente traslabili nella realtà pediatrica, in

quanto fortemente relati all'età e alla superficie corporea dei soggetti in esame, rendendo quindi l'individuazione dei soggetti a rischio estremamente difficile in età giovanile.

Nonostante ciò una stratificazione prognostica anche in età pediatrica sta diventando un imperativo per la comunità cardiologica, sia per l'aumento dell'incidenza dei casi dovuto ad un più sistematico programma di screening familiare, sia per l'elevato rischio di complicanze anche psicologiche relate all'impianto di device in età giovanile<sup>44</sup>.

Il nostro cut off di pressione sistolica di picco calcolato come Z score si è mostrato in grado di predire una minore sopravvivenza libera da eventi nostri pazienti. E' forse questo il primo esempio di un parametro utile nella stratificazione prognostica della CMPI standardizzato per Z score e non espresso in valore assoluto e quindi spendibile con certezza in tutte le fasce di età. Questo potrebbe rappresentare un interessante punto di partenza per un più ampio studio volto ad identificare un possibile approccio standardizzato per età e superficie corporea ai classici fattori di rischio per morte improvvisa nella CMPI.

In aggiunta, il valore di peak VO<sub>2</sub> come già in altre patologie cardiovascolari in età pediatrica<sup>23</sup>, si è dimostrato in grado di predire un deterioramento delle condizioni cliniche in tali pazienti, suggerendo un suo più ampio uso nel follow-up strumentale abituale.

E' sicuramente da notare come tra i principali limiti dello studio ci sia il possibile ruolo della terapia medica non interrotta per l'esecuzione del test, che può sicuramente aver giocato un ruolo nel determinarsi di tali risultati, rispecchiando però il mondo reale del follow up clinico della CMPI.

## **Conclusioni**

Nei pazienti affetti da cardiomiopatia ipertrofica in età pediatrica si conferma la presenza di una diminuita capacità funzionale, che più che al grado di ostruzione all'efflusso sembra essere relata alla funzione sistolica globale (sistolica e diastolica).

Grazie alla sua relativa indipendenza dalle condizioni di carico volumetrico la metodica Tissue Doppler sembra essere la più accurata nella valutazione della funzione ventricolare in questi pazienti.

Il test da sforzo cardiopolmonare sembra inoltre poter giocare un ruolo nella stratificazione prognostica dei pazienti affetti da CMPI in età pediatrica, e in particolare un valore di peak VO<sub>2</sub> < 52% del teorico, e un valore di Z score della pressione sistolica al picco dell'esercizio < -5.8 sembrano identificare i pazienti col più elevato rischio di eventi cardiovascolari a breve-medio termine.

## **Bibliografia**

1. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur. Heart J.* 2008;29(2):270-276.
2. Keren A, Syrris P, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy: the genetic determinants of clinical disease expression. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2008;5(3):158-168.
3. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, et al. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation.* 1995;92(4):785-789.
4. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *JAMA.* 2002;287(10):1308-1320.
5. Maron BJ, Thompson PD, Puffer JC, et al. Cardiovascular preparticipation screening of competitive athletes. A statement for health professionals from the Sudden Death Committee (clinical cardiology) and Congenital Cardiac Defects Committee (cardiovascular disease in the young), American Heart Association. *Circulation.* 1996;94(4):850-856.
6. Klues HG, Schiffrers A, Maron BJ. Phenotypic spectrum and patterns of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy: morphologic observations and significance as assessed by two-dimensional echocardiography in 600 patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995;26(7):1699-1708.
7. Gersh BJ, Maron BJ, Bonow RO, et al. 2011 ACCF/AHA guideline for the diagnosis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2011;124(24):2761-2796.
8. Wigle ED, Rakowski H, Kimball BP, Williams WG. Hypertrophic cardiomyopathy. Clinical spectrum and treatment. *Circulation.* 1995;92(7):1680-1692.

9. Jones S, Elliott PM, Sharma S, McKenna WJ, Whipp BJ. Cardiopulmonary responses to exercise in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart*. 1998;80(1):60-67.
10. Briguori C, Betocchi S, Romano M, et al. Exercise capacity in hypertrophic cardiomyopathy depends on left ventricular diastolic function. *Am. J. Cardiol*. 1999;84(3):309-315.
11. Sharma S, Elliott P, Whyte G, et al. Utility of cardiopulmonary exercise in the assessment of clinical determinants of functional capacity in hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol*. 2000;86(2):162-168.
12. Sharma S, Elliott PM, Whyte G, et al. Utility of metabolic exercise testing in distinguishing hypertrophic cardiomyopathy from physiologic left ventricular hypertrophy in athletes. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2000;36(3):864-870.
13. Kjaergaard J, Johnson BD, Pellikka PA, et al. Left atrial index is a predictor of exercise capacity in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18(12):1373-1380.
14. Lele SS, Thomson HL, Seo H, et al. Exercise capacity in hypertrophic cardiomyopathy. Role of stroke volume limitation, heart rate, and diastolic filling characteristics. *Circulation*. 1995;92(10):2886-2894.
15. Elliott PM, Gimeno JR, Thaman R, et al. Historical trends in reported survival rates in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart*. 2006;92(6):785-791.
16. Maron BJ, Olivotto I, Spirito P, et al. Epidemiology of hypertrophic cardiomyopathy-related death: revisited in a large non-referral-based patient population. *Circulation*. 2000;102(8):858-864.
17. Sadoul N, Prasad K, Elliott PM, et al. Prospective prognostic assessment of blood pressure response during exercise in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1997;96(9):2987-2991.
18. Elliott PM, Poloniecki J, Dickie S, et al. Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: identification of high risk patients. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2000;36(7):2212-2218.

19. Olivotto I, Maron BJ, Monteregegi A, et al. Prognostic value of systemic blood pressure response during exercise in a community-based patient population with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999;33(7):2044-2051.
20. Menon SC, Ackerman MJ, Cetta F, O'Leary PW, Eidem BW. Significance of left atrial volume in patients < 20 years of age with hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 2008;102(10):1390-1393.
21. McMahon CJ, Nagueh SF, Pignatelli RH, et al. Characterization of left ventricular diastolic function by tissue Doppler imaging and clinical status in children with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2004;109(14):1756-1762.
22. Yetman AT, Gow RM, Seib P, Morrow WR, McCrindle BW. Exercise capacity in children with hypertrophic cardiomyopathy and its relation to diastolic left ventricular function. *Am. J. Cardiol.* 2001;87(4):491-493, A8.
23. Giardini A, Fenton M, Andrews RE, Derrick G, Burch M. Peak oxygen uptake correlates with survival without clinical deterioration in ambulatory children with dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 2011;124(16):1713-1718.
24. Giardini A, Specchia S, Berton E, et al. Strong and independent prognostic value of peak circulatory power in adults with congenital heart disease. *Am. Heart J.* 2007;154(3):441-447.
25. Anon. ATS/ACCP Statement on cardiopulmonary exercise testing. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003;167(2):211-277.
26. Wasserman K, Sue D. *Principles of Exercise Testing and Interpretation.* 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1994.
27. Cooper DM, Weiler-Ravell D. Gas exchange response to exercise in children. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1984;129(2 Pt 2):S47-48.
28. Alpert BS, Dover EV, Booker DL, Martin AM, Strong WB. Blood pressure response to dynamic exercise in healthy children-black vs white. *J. Pediatr.* 1981;99(4):556-560.
29. Elliott PM, Gimeno Blanes JR, Mahon NG, Poloniecki JD, McKenna WJ. Relation between severity of left-ventricular

hypertrophy and prognosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet*. 2001;357(9254):420-424.

30. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr*. 2006;7(2):79-108.

31. Briguori C, Betocchi S, Losi MA, et al. Noninvasive evaluation of left ventricular diastolic function in hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol*. 1998;81(2):180-187.

32. Panza JA, Petrone RK, Fananapazir L, Maron BJ. Utility of continuous wave Doppler echocardiography in the noninvasive assessment of left ventricular outflow tract pressure gradient in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol*. 1992;19(1):91-99.

33. Zoghbi WA, Enriquez-Sarano M, Foster E, et al. Recommendations for evaluation of the severity of native valvular regurgitation with two-dimensional and Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2003;16(7):777-802.

34. Nagueh SF, Middleton KJ, Kopelen HA, Zoghbi WA, Quiñones MA. Doppler tissue imaging: a noninvasive technique for evaluation of left ventricular relaxation and estimation of filling pressures. *J. Am. Coll. Cardiol*. 1997;30(6):1527-1533.

35. Nagueh SF, Bachinski LL, Meyer D, et al. Tissue Doppler imaging consistently detects myocardial abnormalities in patients with hypertrophic cardiomyopathy and provides a novel means for an early diagnosis before and independently of hypertrophy. *Circulation*. 2001;104(2):128-130.

36. Chikamori T, Counihan PJ, Doi YL, et al. Mechanisms of exercise limitation in hypertrophic cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol*. 1992;19(3):507-512.

37. Betocchi S, Hess OM, Losi MA, Nonogi H, Krayenbuehl HP. Regional left ventricular mechanics in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1993;88(5 Pt 1):2206-2214.

38. Maron BJ, Spirito P, Green KJ, et al. Noninvasive assessment of left ventricular diastolic function by pulsed Doppler echocardiography in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol*. 1987;10(4):733-742.

39. Biagini E, Spirito P, Rocchi G, et al. Prognostic implications of the Doppler restrictive filling pattern in hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 2009;104(12):1727-1731.
40. Nishimura RA, Appleton CP, Redfield MM, et al. Noninvasive doppler echocardiographic evaluation of left ventricular filling pressures in patients with cardiomyopathies: a simultaneous Doppler echocardiographic and cardiac catheterization study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996;28(5):1226-1233.
41. Yamamoto K, Redfield MM, Nishimura RA. Analysis of left ventricular diastolic function. *Heart.* 1996;75(6 Suppl 2):27-35.
42. Matsumura Y, Elliott PM, Virdee MS, et al. Left ventricular diastolic function assessed using Doppler tissue imaging in patients with hypertrophic cardiomyopathy: relation to symptoms and exercise capacity. *Heart.* 2002;87(3):247-251.
43. Nihoyannopoulos P, Karatasakis G, Frenneaux M, McKenna WJ, Oakley CM. Diastolic function in hypertrophic cardiomyopathy: relation to exercise capacity. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1992;19(3):536-540.
44. Montalti A, Mariucci EM, Bronzetti G, et al. [Results and complications of permanent pacing in pediatric patients with congenital or acquired atrioventricular block]. *G Ital Cardiol (Rome)*. 2011;12(11):717-723.