

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI
BOLOGNA

CAMPUS DI CESENA

DIPARTIMENTO DI
INGEGNERIA DELL'ENERGIA ELETTRICA E DELL'INFORMAZIONE
"GUGLIELMO MARCONI"

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**Una tecnica innovativa per il trattamento della
fibrillazione atriale: ablazione non termica mediante
elettroporazione**

Elaborato in
Computational Cardiology

Relatore

Prof. Stefano Severi

Correlatrice

Prof.ssa Chiara Bartolucci

Presentata da

Vittoria Alexandra Rogge

Anno Accademico 2021/2022

INDICE

Abstract	1
Capitolo 1 – Aritmie cardiache	
1.1 Cos'è una aritmia?	2
1.2 Fibrillazione atriale (FA)	2
1.2.1 FA isolata e secondaria	4
Capitolo 2 – Ablazione cardiaca della FA: nuova frontiera terapeutica	
2.1 Aspetti generali dell'ablazione transcateretere	5
2.1.1 Storia delle strategie di ablazione	5
2.2 Ablazione a radiofrequenza	6
2.3 Crioablazione	8
2.4 Sorgenti di energia alternative per l'ablazione	10
Capitolo 3 – PFA: sistema di ablazione a campo pulsato	
3.1 Introduzione	11
3.1.1 Differenze cruciali con radiofrequenza e crioablazione	11
3.2 Meccanismo di funzionamento e morte cellulare	13
3.3 Dipendenza dai parametri di erogazione della terapia	15
3.4 Design di catetere	15
3.4.1 Sistema FARAPULSE	18
3.5 Complicazioni e possibili effetti indesiderati su altri tessuti	19
Capitolo 4 – Risultati clinici	
4.0 Compendio clinico	22
4.1 Isolamento delle vene polmonari: confronto tra PFA e ablazioni termiche	25
4.2 FaraPulse: Sicurezza, efficacia ed efficienza	27
4.3 Conclusioni e prospettive future	32
Bibliografia e Sitografia	33

Abstract

Attualmente, tutte le procedure di ablazione cardiaca per il trattamento delle aritmie si basano sull'uso di radiofrequenza e di cateteri per crioablazione. Nonostante l'evoluzione e i miglioramenti significativi nel design e nelle forme di erogazione dell'energia, sono state riscontrate svariate limitazioni, in particolar modo per quanto riguarda i danni termici collaterali ai tessuti vicini alla zona bersaglio.

La terapia di ablazione a campo elettrico pulsato (PFA) rappresenta un approccio rivoluzionario per il trattamento di aritmie cardiache, specialmente per la fibrillazione atriale. Questa tecnica utilizza come fonte di energia l'elettroporazione, sistema in grado di creare un danno a livello della membrana cellulare, con una conseguente inattivazione delle cellule responsabili dell'aritmia. Grazie alla sua natura non termica e altamente specializzata per il tessuto miocardico, questa energia ha il grande vantaggio di essere più sicura ed efficiente rispetto ai convenzionali approcci di radiofrequenza e crioablazione, aprendo dunque una strada alternativa per il trattamento dei disturbi cardiaci.

CAPITOLO 1 - ARITMIE CARDIACHE

1.1 Cos'è una aritmia?

Per aritmia cardiaca si intende un'anormalità o una perturbazione nella attivazione del cuore o del ritmo cardiaco, per la quale il battito risulta irregolare. Il normale ritmo cardiaco è chiamato ritmo sinusale, con una frequenza di contrazione a riposo compresa tra i 60 e gli 80 battiti al minuto. La frequenza cardiaca può però, in presenza di patologie, essere alterata e diventare troppo veloce (tachicardia), troppo lenta (bradicardia) o, addirittura, può essere completamente irregolare (come nel caso della fibrillazione atriale). Esistono vari tipi di aritmie, dalle più innocue che possono essere curate, alle più gravi che possono causare danni ad alcuni organi come il cervello o condurre alla morte in tempi brevi. Infine, la gravità di un'aritmia varia a seconda della parte del cuore da cui ha origine o che risulta esserne interessata.

1.2 Fibrillazione atriale

La fibrillazione atriale (FA) è una delle più comuni aritmie cardiache riscontrate in ambito clinico e colpisce circa l'1,5-2% della popolazione generale mondiale¹. Oltre 6 milioni di Europei presentano questa forma di aritmia e si prevede che la sua prevalenza raddoppierà nei prossimi 50 anni con il progressivo invecchiamento della popolazione. Il 70% dei pazienti affetti da FA ha più di 65 anni, con un'età media di 75 anni² e l'incidenza è leggermente maggiore negli uomini rispetto alle donne in tutte le fasce di età (in media 1,1% contro 0,8%)³. La fibrillazione atriale consiste in una tachiaritmia sopraventricolare caratterizzata da un'attività elettrica atriale caotica e irregolare che determina la perdita della funzione meccanica della contrazione atriale⁴. Nei pazienti che soffrono di fibrillazione atriale, l'impulso che dà origine al battito non parte dal nodo senoatriale, ma in una zona diversa degli atri o nelle vene polmonari immediatamente vicine. Gli impulsi elettrici non riescono a percorrere normalmente i tessuti e si diffondono negli atri in modo veloce e disorganizzato. Gli atri, quindi, iniziano a fibrillare. La diagnosi di tale patologia è elettrocardiografica:

1. Il primo elemento che caratterizza la FA nell'ECG è la scomparsa delle onde di attivazione atriale (onde P), che vengono sostituite da rapide oscillazioni della linea isoelettrica, dette onde di fibrillazione (onde f). Le onde f sono del tutto irregolari, con continue variazioni di forma, di voltaggio e degli intervalli f-f, hanno frequenza molto elevata (400-600/minuto) e durano per tutto il ciclo cardiaco, determinando un aspetto frastagliato della linea isoelettrica (*Figura 1*).
2. Il secondo elemento caratteristico della FA è l'irregolarità degli intervalli R-R. In corso di FA, un grande numero di impulsi di origine atriale raggiunge la giunzione atrio-ventricolare (AV), ma solo una parte di essi si trasmette effettivamente ai ventricoli.

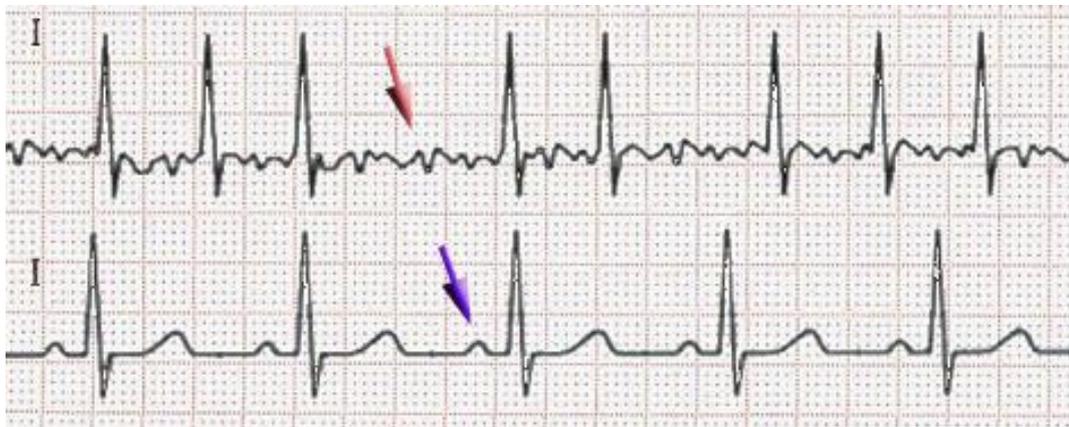


Figura 1: Tracciati di una fibrillazione atriale (sopra) e di un ritmo sinusale (sotto). La freccia rossa indica l'irregolarità di forma e frequenza del tracciato in presenza di fibrillazione atriale. La freccia viola indica l'onda P, assente nella FA. (Fonte: www.wikipedia.org)

Circa il 70% dei pazienti con FA presenta sintomi⁵: tra i più comuni si trovano le palpitazioni (54%), che sono più frequenti nelle forme parossistiche, e la dispnea (44%), che è prevalente nelle forme permanenti. Altri sintomi di comune riscontro sono la facile affaticabilità e astenia (14%), il dolore toracico (10%), le vertigini e meno spesso la sincope (10%)⁶. Inoltre, la patologia è frequentemente associata ad ictus⁷ (con probabilità 3-5 volte superiore rispetto ad altri pazienti), arresti cardiaci ed un aumento della mortalità. Nonostante ciò, la FA può essere di breve durata (24-48 ore), con sintomi che compaiono e scompaiono spontaneamente (forma parossistica), ed è possibile che un episodio di FA si risolva senza alcun intervento. Tuttavia, questa patologia può essere persistente e/o permanente e necessitare di trattamento: a causa di una efficacia inadeguata della terapia farmacologica, l'ablazione transcateretere per FA si è evoluta significativamente negli ultimi 20 anni.

1.2.1 FA isolata e secondaria

Nella maggior parte dei casi di FA è possibile riscontrare una causa responsabile o una concomitante patologia cardiovascolare associata, in questi casi si parla di FA secondaria⁸. Alcune di queste condizioni possono essere temporanee e reversibili e in questi casi il loro trattamento porta spesso alla risoluzione dell'aritmia. I fattori di rischio cardiovascolari connessi alla comparsa della FA secondaria sono rappresentati dall'ipertensione arteriosa (presente nel 50-65% dei casi), il diabete mellito (presente nel 15-20%), l'obesità^{9,10} e il fumo. Accanto alla FA secondaria, esiste una FA primitiva o isolata (circa il 5-10% di tutte le forme di FA). Per questa si intende una FA che colpisce principalmente individui di giovane età o, comunque, di età inferiore ai 60 anni che non presentano segni clinici o ecocardiografici di concomitante patologia cardiopolmonare, né ipertensione arteriosa, né qualsiasi altra causa nota e identificabile di FA.

CAPITOLO 2 – ABLAZIONE CARDIACA: NUOVA FRONTIERA TERAPEUTICA

2.1 Aspetti generali dell'ablazione transcatetere

L'ablazione transcatetere o cardiaca è una delle più importanti strategie per il controllo del ritmo cardiaco ed è attualmente la più comune procedura di ablazione impiegata a livello mondiale. Si tratta di una tecnica mininvasiva durante la quale il medico introduce un catetere (con una punta di 4-8 mm di lunghezza) nei vasi sanguigni e lo manovra fino a raggiungere il cuore, annullando ("ablando") i percorsi elettrici anomali presenti nei tessuti cardiaci.

L'ablazione per il trattamento della fibrillazione atriale è una opzione ben consolidata per i pazienti che presentano sintomatologia. Nonostante la terapia abbia una bassissima percentuale di complicazioni¹¹, è necessario tenere in considerazione svariate variabili, tra cui la presenza di patologie cardiache concomitanti, l'età del paziente, la grandezza dell'atrio sinistro, possibile obesità, apnee notturne e tipologia di FA. L'isolamento della vena polmonare (PVI)¹² è stata fin da subito la strategia di ablazione transcatetere predominante, soprattutto per il trattamento della FA parossistica, ma si è evoluta significativamente nelle ultime due decadi, attraverso l'impiego di sorgenti di energia multiple e strumenti in grado di rendere il trattamento sempre più sicuro ed efficace.

2.1.1 Storia delle strategie di ablazione

Dopo che, nel 1998, Haïssaguerre e collaboratori riportarono sul *New England Journal of Medicine*¹³ che gran parte dei battiti ectopici in grado di innescare la FA scaturisce dalle vene polmonari, il target principale dell'ablazione transcatetere della fibrillazione atriale divenne proprio l'isolamento di tali vene.

La prima tecnica basata sull'utilizzo di cateteri in grado di isolare elettricamente le vene polmonari è stata l'ablazione *segmental ostial*¹⁴, dove la linea di lesione in grado di bloccare i punti di trigger della FA e creare una barriera alla propagazione dell'aritmia, viene applicata in una regione delle vene polmonari chiamata antro. I risultati di tale procedura sono però relativamente modesti, ottenendo un successo del 60-65%.

Un'efficacia più elevata è emersa, invece, dall'isolamento circonfrenziale, cioè andando a circondare entrambi gli orifizi delle vene polmonari di un lato con linee di lesione eseguite punto per punto, sia nel caso di FA parossistica che persistente¹⁵. In una serie di 349 pazienti consecutivi sottoposti ad isolamento circonfrenziale delle vene polmonari presso l'università del Michigan, l'aritmia è stata annullata nell'87% dei pazienti affetti da forma parossistica e nel 75% di quelli affetti da FA persistente¹⁶.

2.2 Ablazione a radiofrequenza

Nel 1985 venne introdotta per la prima volta l'ablazione a radiofrequenza (RF) come potenziale modalità di trattamento delle aritmie cardiache¹⁷. L'energia a RF è una forma di corrente elettrica alternata con un range di frequenze che va dai 500 kHz ai 750 kHz. Lo scopo dell'ablazione transcatetere a RF è quello di trasformare l'energia elettromagnetica in energia termica attraverso il riscaldamento resistivo, sfruttando l'effetto Ohm¹⁸. Il catetere, che presenta un elettrodo metallico posto sulla punta, viene posizionato sull'area da trattare e, riscaldandosi, provoca un danno nel tessuto a diretto contatto con esso (*Figura 2*).

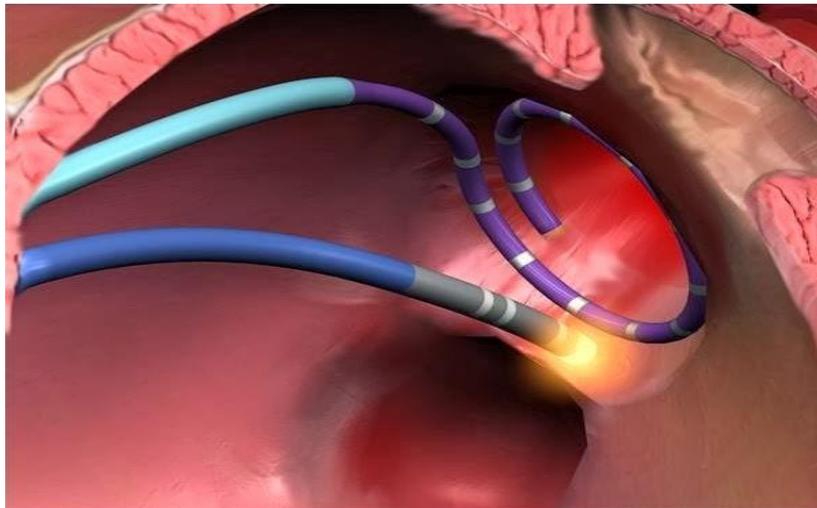


Figura 2: Il catetere mappante multipolare (in viola) permette di localizzare i segnali cardiaci con elevatissima precisione. Il catetere ablatore (in blu) irradia energia sotto forma di calore attraverso l'elettrodo posto sulla punta. (Fonte: <https://www.cardiologicomonzino.it/>)

La produzione di calore e, di conseguenza, la porzione di lesione dovuta all'ablazione, sono proporzionali alla quantità di energia irradiata. Il surriscaldamento si traduce in

una denaturazione delle proteine e una successiva distruzione del tessuto, che va incontro a necrosi. È stato dimostrato come si vada incontro ad un danno irreversibile una volta raggiunti i 50°C, nonostante ciò, quando la temperatura all'interfaccia elettrodo-tessuto supera i 100°C, le proteine plasmatiche formano dei coaguli che provocano un rapido aumento dell'impedenza, che si traduce in una decrescita di densità di corrente, andando di fatto a limitare il danno ai tessuti più profondi.

L'ablazione a radiofrequenza può essere eseguita in modalità di controllo della temperatura o controllo di potenza: in modalità "power-control", un livello fissato di potenza di radiofrequenza viene fissato dall'operatore, che determina poi la quantità di corrente da impartire. Viceversa, in modalità "temperature-control", un termistore posto all'interno dell'elettrodo invia un feedback al generatore segnalando istantaneamente la temperatura raggiunta. In questo modo, il generatore aumenta o diminuisce il livello di potenza in modo da mantenere un valore fissato di temperatura all'interfaccia.

Nel corso degli anni, il design del catetere ablatore ha subito radicali cambiamenti di forma e numero di elettrodi, per permettere una migliore localizzazione, una dose minore di radiazione irradiata, tempi di trattamento più corti e un ridotto danno ai tessuti circostanti (*Figura 3*).

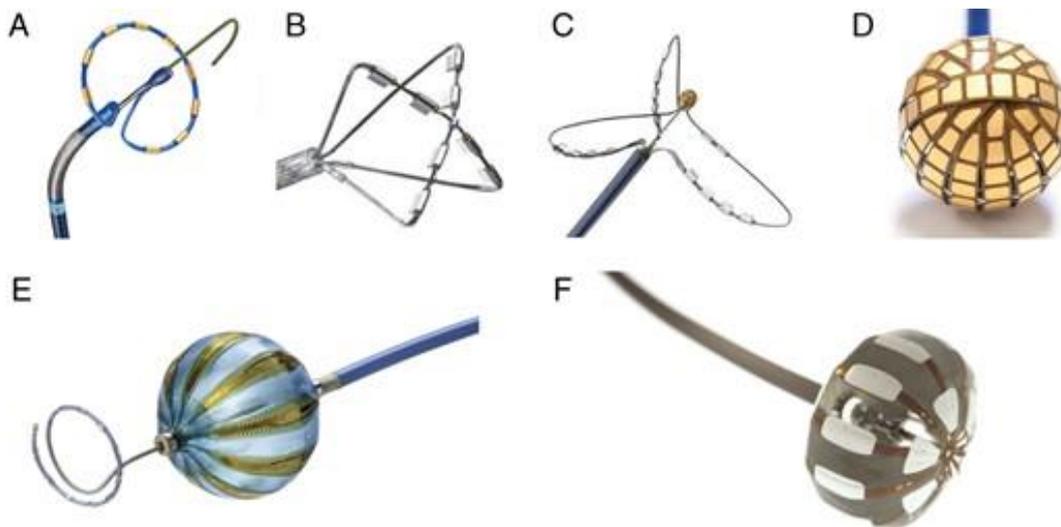


Figura 3: (A) Catetere ablatore a radiofrequenza duty-cycle con sistema di mappaggio (Medtronic, USA); (B) Catetere multi-array per il mappaggio e l'ablazione di elettrogrammi frazionati nell'atrio (Medtronic, USA); (C) Catetere multi-array settale per l'ablazione di segnali atriali frazionati nel setto atriale sinistro (Medtronic, USA); (D) Catetere a 122 elettrodi con mappaggio globale ad alta definizione per PVI "single-shot" (Kardium, Canada); (E) Catetere a palloncino HELIOSTAR multi-elettrodo con catetere mappatore LASSOSTAR (BIOSENSE WEBSTER, INC); (F) Catetere a palloncino LUMINIZE multi-elettrodo con camera per la visualizzazione dei tessuti a contatto. Il modello è in fase di

sperimentazione, dunque non in commercio o disponibile all'uso (Boston Scientific, USA) (Fonte: [Radiofrequency ablation: technological trends, challenges, and opportunities | EP Europace | Oxford Academic \(oup.com\)](#))

Recentemente è stata proposta come strategia alternativa la combinazione “elevata potenza-esposizione ridotta”, in grado di migliorare la formazione della lesione e diminuire il danno collaterale generato durante l’isolamento delle vene polmonari. In questa modalità, si sfrutta una potenza di 50-90 W applicata per circa 5-15 secondi. Il risultato che si ottiene è una porzione più larga del tessuto surriscaldato, ma, essendo la durata molto corta, si limita significativamente la conduzione termica ai tessuti più profondi e dunque i danni collaterali.

2.3 Crioablazione

Oltre alle numerose modalità di ablazione della fibrillazione atriale quali la radiofrequenza unipolare e bipolare, il laser e l’ablazione ad ultrasuoni, esiste un’altra procedura che permette di trattare l’aritmia: la cosiddetta ablazione criotermica o crioablazione. La crioablazione genera un freddo molto spinto, grazie all’effetto Joule-Thompson, capace di creare un range di temperature che va dai -30°C ai -90°C all’interfaccia tessuto-catetere. Questa tecnica si avvale di un catetere ablatore cavo che presenta un elettrodo chiuso alla punta da un palloncino gonfiabile (“*cryoballoon*”, *Figura 4*), che si espande una volta posizionato correttamente all’ostio della vena polmonare (*Figura 5*). Successivamente, si riempie di liquido refrigerante (NO_2) sotto pressione. Il raffreddamento del miocardio a queste temperature crea una lesione dell’area interessata secondo vari meccanismi¹⁹: raffreddando a -20°C si promuove la formazione di ghiaccio extracellulare, uno shift osmotico e un’uscita di acqua dallo spazio intracellulare a quello extracellulare. Un effetto citopatico si riscontra, però, a -40°C , quando il ghiaccio intracellulare danneggia gli organelli della membrana plasmatica e tutta la circonferenza della vena a contatto con il palloncino subisce una necrosi da congelamento. La tecnica criotermica può essere permanente, reversibile, o, in alcuni casi, progressiva a seconda del danno strutturale e vascolare lasciato dal trattamento stesso.

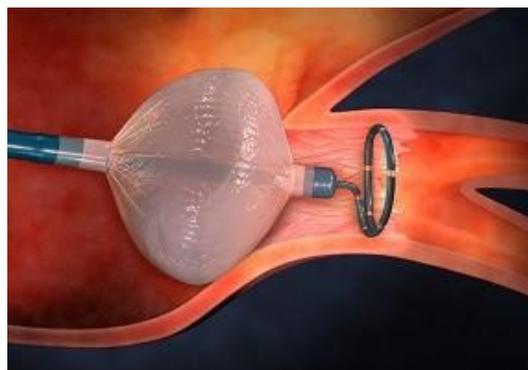
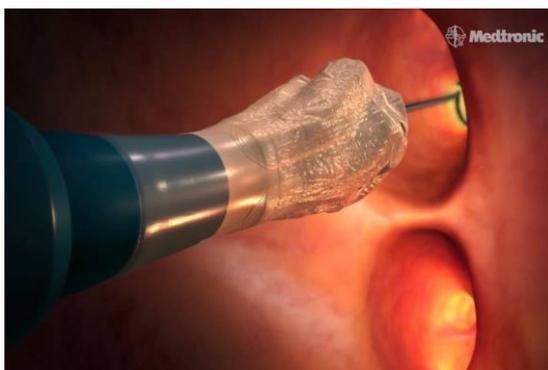


Figura 4: Il palloncino posto sulla punta dell'elettrodo è sgonfio per permettere il corretto posizionamento nell'antro della vena polmonare. Figura 5: Una volta inserito correttamente, il crio-palloncino si gonfia e si riempie di liquido refrigerante, andando quindi a raffreddare a basse temperature la zona che dà origine all'aritmia. (Fonte: <https://heartrhythmdoc.com/arrhythmia-treatment-options/cryoablation/>)

Progressi nella tecnologia del crio-palloncino continuano ad essere cruciali per un continuo miglioramento dei risultati e dei tempi di procedura sempre minori. Infatti, il tempo di isolamento si è dimostrato essere un fattore determinante per un PVI duraturo. Recenti studi dimostrano come una singola applicazione di crio-energia sia sufficiente a garantire un isolamento elettrico delle vene polmonari in maniera permanente nel 96.4% dei casi, se la temperatura richiesta di -40°C e l'isolamento elettrico acuto vengono ottenuti nell'arco di 60 secondi²⁰.

L'uso della crioablazione per l'isolamento delle vene polmonari ha dei potenziali vantaggi: lo strato di ghiaccio che avvolge la punta del catetere determina una perfetta adesione e stabilità al tessuto, inoltre, rispetto alla tradizionale termoablazione, la crioablazione porta ad un minor disagio per il paziente, in quanto dimezza i tempi dell'intervento. Nonostante ciò, un ampio studio condotto in 16 centri Europei, chiamato “*Fire and Ice*”, ha confrontato per la prima volta in modo randomizzato e controllato 378 pazienti assegnati al trattamento criogenico e 384 pazienti randomizzati per l'ablazione in RF punto-a-punto delle lesioni, dimostrando che, in pazienti con FA parossistica, i due approcci di ablazione sono simili in termini di efficacia e sicurezza^{21,22,23}.

2.4 Sorgenti di energia alternative per l'ablazione

Oltre alle due tecniche di ablazione attualmente più consolidate e trattate nei capitoli precedenti, esistono altre modalità di trattamento delle aritmie cardiache. Un primo esempio di catetere ablatore progettato per l'isolamento delle vene polmonari si basa sul trasferimento di energia a microonde, capace di creare un danno termico dovuto all'effetto dielettrico. L'energia microonde non viene assorbita dal sangue e può penetrare profondamente nel tessuto, creando quindi una larga lesione associata ad un rischio collaterale più elevato rispetto all'ablazione a RF e criotermica^{24,25}. Proprio per questo motivo, questa modalità di trattamento non è comune, seppur sia sotto osservazione clinica.

Sono stati testati anche cateteri ad ultrasuoni in grado di creare delle lesioni dovute alla cavitazione ultrasonica e allo stress meccanico. L'energia ad ultrasuoni transita attraverso il sangue, nonostante ciò, il catetere non necessita del contatto diretto con il tessuto per la procedura di ablazione. Sebbene l'isolamento delle vene polmonari sia efficace, a causa di avvenimenti di fistole atrio-esofagee e paralisi del nervo frenico, l'ablazione ultrasonica non rispetta i criteri di sicurezza per l'uso clinico^{26,27}. In alcuni sistemi di ablazione sono stati sperimentati anche laser emittenti luce ad infrarossi: questo tipo di energia riscalda il tessuto attraverso radiazione elettromagnetica. Tuttavia, la luce ad infrarossi non è in grado di penetrare nel sangue, necessitando perciò di un contatto diretto con il tessuto da trattare.

Recentemente, è emersa una nuova modalità di ablazione non termica che sembra superare le limitazioni imposte dalla radiofrequenza e dalla crioablazione aprendo dunque una nuova strada per il trattamento delle aritmie, in particolare la fibrillazione atriale.

CAPITOLO 3 – PFA: SISTEMA DI ABLAZIONE A CAMPO PULSATO

3.1 Introduzione

L'ablazione a campo elettrico pulsato (PFA, “*Pulse Field Ablation*”) si è dimostrata essere una nuova modalità di trattamento per le aritmie, specialmente per la fibrillazione atriale. La PFA sfrutta il fenomeno dell'elettroporazione irreversibile, meccanismo che permette di permeabilizzare la membrana delle cellule responsabili del disturbo, rendendole inattive. La prima applicazione di elettroporazione per il trattamento di aritmie cardiache risale ai primi anni '80, quando Gonzalez R. e collaboratori sfruttarono la corrente elettrica diretta sincronizzata per indurre un blocco atrio-ventricolare completo in un modello canino²⁸. Nonostante il successo, la tecnica venne presto accantonata a causa delle serie complicazioni ad essa associate e sostituita dall'ablazione a radiofrequenza. Quasi tre decenni dopo, uno studio condotto nel 2007 da Jacob L. et al., riconsiderò l'elettroporazione irreversibile come una sorgente di energia promettente²⁹. L'energia di corrente diretta venne applicata con fascio pulsato (100 μ s ogni sequenza pulsata ad una frequenza di 5 volte al secondo) e i risultati dimostrarono come l'elettroporazione fosse in grado di creare un danno non termico, una lesione transmurale ed un isolamento elettrico del tessuto miocardico, riaprendo nuovamente le porte a questa tecnica di ablazione innovativa.

3.1.1 Differenze cruciali con radiofrequenza e crioablazione

Una prima sostanziale differenza della PFA rispetto alle convenzionali tecniche di ablazione (radiofrequenza e crio-energia) è il fatto di essere non termica: questa caratteristica peculiare porta il tessuto trattato a morire non di necrosi da bruciatura o congelamento, ma di necrosi da microperforazione della membrana cellulare, spiegata dettagliatamente nel capitolo successivo. Inoltre, l'ablazione a campo pulsato ha un target tissutale altamente selettivo, ciò permette di andare a trattare solamente i cardiomiociti durante la terapia, lasciando inalterate e prive di danni collaterali (come fistole atrio-esofagee, paralisi del nervo frenico, stenosi della vena polmonare) le cellule delle strutture adiacenti (*Figura 6 e 7*).

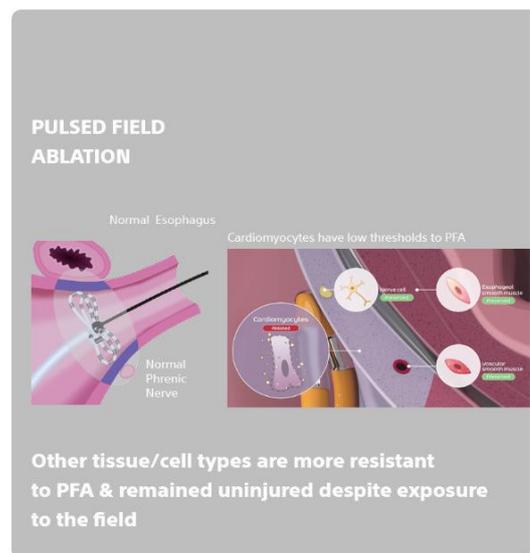
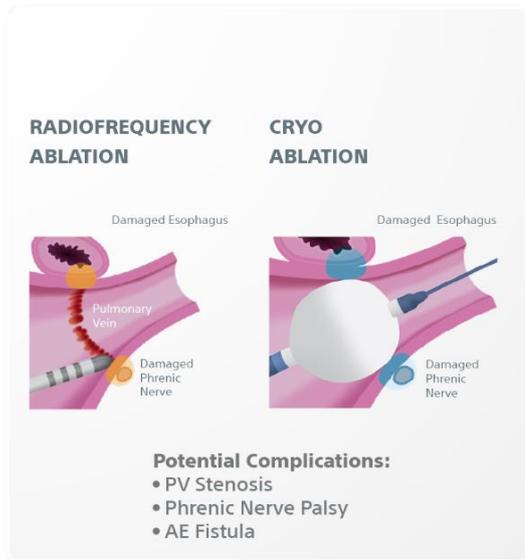


Figura 6: Tradizionali tecniche di ablazione a radiofrequenza e criotermica (sinistra) che hanno come potenziali complicazioni la stenosi della vena polmonare, fistole atrio-esofagee e paralisi del nervo frenico dovute al trattamento termico, comparate al nuovo sistema di ablazione a campo pulsato (destra) altamente selettivo e non termico. I cardiomiociti, avendo una soglia di attivazione alla PFA più bassa, sono le uniche cellule ad essere esposte al trattamento, lasciando inalterati e privi di danni gli altri tessuti. (Fonte: <https://www.bostonscientific.com/en-EU/products/catheters-ablation/farapulse/pfa-therapy.html>)

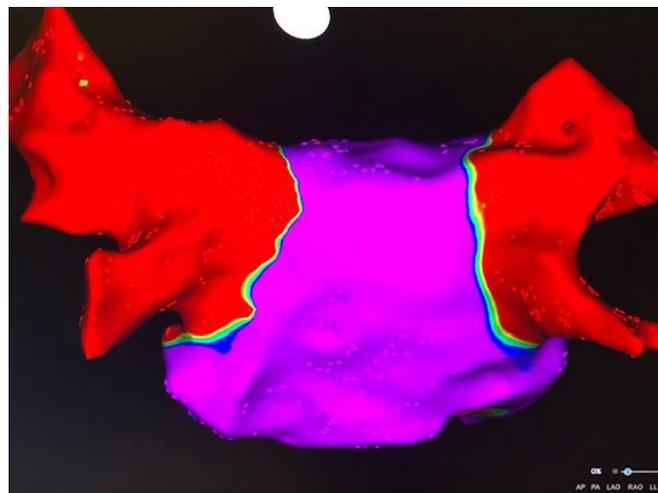


Figura 7: Visuale posteriore dell'atrio sinistro tramite mapping a voltaggio bipolare. Si nota distintamente l'assenza di attività elettrica nelle vene polmonari ablate (in rosso) con una netta linea di demarcazione che le divide dal tessuto sano a voltaggio normale (in viola), privo di lesioni. (Fonte: Pulsed Field Ablation: a Novel Therapeutic Tool for Catheter-Based Treatment of Atrial Fibrillation | SpringerLink)

3.2 Meccanismo di funzionamento e morte cellulare

La PFA prevede che venga applicata una serie di impulsi elettrici (un cosiddetto treno di impulsi) ad altissimo voltaggio, anche 1500-2000V, per una durata di tempo limitata (microsecondi/nanosecondi). L'energia viene trasferita per un periodo di tempo così breve, che il tessuto miocardico non ha il tempo necessario per riscaldarsi (come nel caso della ablazione a RF in cui si verifica una necrosi di tipo termico). Con una singola applicazione da 100 μ s ad una intensità di 1000 V/cm, il massimo aumento di temperatura nel tessuto che ci si aspetta di riscontrare è di circa 0.36 °C. È stato dimostrato che per voltaggi pari a 2100 V/cm la temperatura del tessuto trattato è leggermente inferiore ai 45 °C³⁰: tali aumenti di temperatura non sono soliti causare danni termici, considerando il fatto che il punto di soglia per il danno termico è a 50 °C. Tuttavia, l'elevata energia ha la possibilità di attraversare i cardiomiociti atriali, determinando una microperforazione della membrana cellulare che, in seguito, porta alla morte della cellula (*Figura 8*). Dapprima, il campo elettrico indotto altera il potenziale di membrana cellulare a causa di un accumulo di cariche da un lato della membrana stessa, che si traduce in un cambiamento del microambiente cellulare. Successivamente, la redistribuzione di cariche intra- ed extra-cellulari e la perdita di integrità della membrana, ne modificano le proprietà di semipermeabilità: a questo punto, i gradienti di concentrazione necessari a garantire l'omeostasi cellulare vengono alterati. Infine, l'applicazione della PFA causa una alterazione locale del PH del tessuto, determinando un rilascio di Citocromo-c mitocondriale, che dà inizio ad una cascata di eventi che porta alla effettiva morte della cellula³¹⁻³⁴.

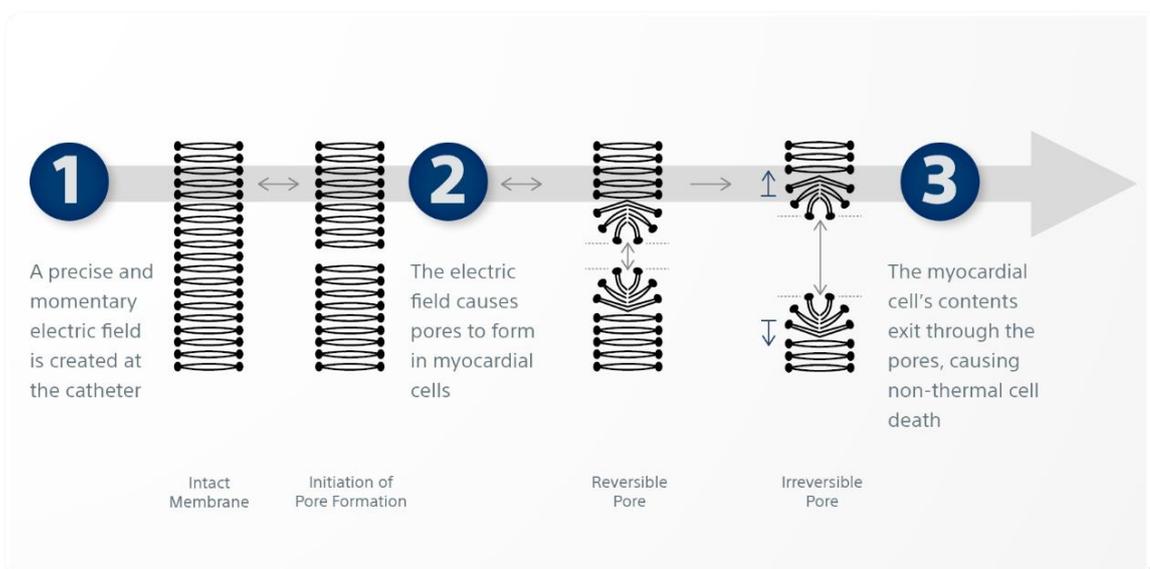


Figura 8: (1) Viene creato un campo elettrico sulla punta del catetere e la membrana cellulare è ancora integra; (2) Il campo applicato alla zona da trattare crea delle perforazioni nelle cellule miocardiche; (3) Le perforazioni dei cardiomiociti, divenute irreversibili, causano un'uscita del contenuto cellulare, che porta alla morte non-termica della cellula. (Fonte: <https://www.bostonscientific.com/en-EU/products/catheters-ablation/farapulse/pfa-therapy.html>)

L'ablazione a elettroporazione può innescare vari tipi di morte cellulare nel tessuto trattato: apoptosi, necrosi, necroptosi e piroptosi. Il tipo di morte a cui la cellula va incontro dipende da svariati fattori, quali i parametri di pulsazione, il tipo di tessuto e le modalità di trattamento. Alcuni studi hanno dimostrato come le cellule più vicine all'elettrodo che irradia energia tendano ad andare incontro a necrosi, viceversa, le cellule delle aree confinanti, muoiono più facilmente di apoptosi^{35,36}.

Il processo di morte cellulare richiede un decorso di svariate settimane. Nella fase acuta (2-5 ore), non vi sono cambiamenti strutturali significanti; dopo 1-3 giorni, le regioni necrotiche dei cardiomiociti iniziano ad essere sostituite da infiltrato infiammatorio, incluse infiltrazioni di fibroblasti. A 7-14 giorni dalla terapia la risposta infiammatoria è al termine e i fibroblasti hanno depositato una matrice fibrotica di proteine extracellulari nelle regioni trattate. A lungo termine (>21 giorni), la cicatrice fibrotica continua a svilupparsi e non vi è nessuna vitalità visibile dei cardiomiociti all'interno della regione sottoposta a trattamento. Si può concludere che la PFA provoca un effetto letale sul tessuto miocardico che viene progressivamente sostituito da fibrosi, che risulta essere necessaria per una ablazione cardiaca duratura (Figura 9).

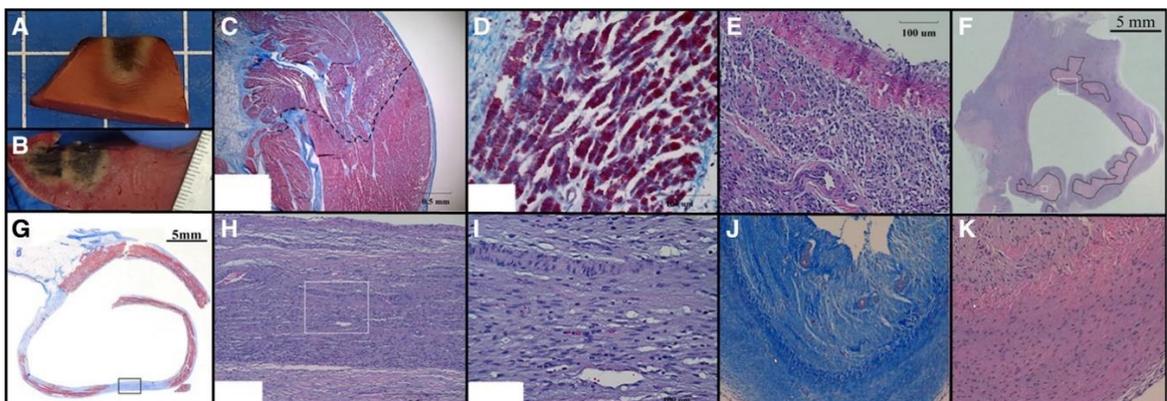


Figura 9: (A) Singola applicazione focale; (B) Due applicazioni focali adiacenti; (C) Istologia acuta (tricromo) del tessuto trattato mostra una chiara demarcazione tra cellule vive e morte; (D) Istologia acuta (tricromo) della frammentazione e restringimento dei cardiomiociti; (E) Colorazione con ematossilina eosina di una vena polmonare dopo 3 giorni mostra la degenerazione dei cardiomiociti e la sostituzione con fibroblasti e cellule infiammatorie; (F) Colorazione viola indicativa della proliferazione cellulare e fibroplasia in risposta alla necrosi del tessuto miocardico; (G) Fotografia don colorazione

tricromica della vena cava superiore a 14 giorni dal trattamento, le aree blu mostrano tessuto fibrotico spesso e ben formato; (H) Colorazione con ematossilina eosina a 14 giorni dal trattamento; (I) Fibroblasti incorporati in matrice di collagene (rosa); (J) Colorazione con tricromo a 28 giorni e (K) ematossilina eosina della stessa sezione di vena polmonare. Le aree in blu scuro e rosa mostrano un collagene maturo e organizzato con tessuto fibrotico spesso nell'area sottoposta a PFA (Fonte: <https://www.ahajournal.org/>)

3.3 Dipendenza dai parametri di erogazione della terapia

La PFA e i risultati ad essa associati dipendono fortemente dai parametri di trattamento impostati, come l'intensità di energia, la durata e il numero degli impulsi, la forma dell'onda o il design del catetere utilizzato. Le variazioni dei parametri sopradescritti forniscono un profilo e un'efficacia diversi delle lesioni, e, per tale motivo, ogni terapia di ablazione che si basa su elettroporazione deve essere valutata univocamente e in maniera indipendente dalle altre.

L'alterazione del potenziale di membrana cellulare, indotta dal campo elettrico, è in funzione dell'intensità del campo elettrico stesso e della durata delle cariche in movimento. Conseguentemente, gli effetti cellulari in una regione possono essere direttamente controllati dalla forza e dalla durata di esposizione del campo ad un dato impulso. Anche il voltaggio ha un ruolo cruciale nella formazione della lesione: nonostante il suo aumento sia direttamente proporzionale all'intensità del trattamento, incrementa anche il rischio di riscaldamento del tessuto e contrazione muscolare³⁷. Solitamente, il voltaggio nella PFA varia dai 500 ai 3000 V/cm³⁸.

Un altro parametro su cui è importante soffermarsi è la forma d'onda degli impulsi inviati al tessuto. Quest'ultima può essere monofasica oppure bifasica: la monofasica si traduce in una maggiore capacità di carica della membrana cellulare, in grado di provocare un effetto distruttivo più accentuato. Nonostante il potenziale grado di lesione, si affianca al rischio di depolarizzare elettricamente i tessuti circostanti, induce alla contrazione muscolare e alla formazione di gas^{39,40}. Viceversa, una forma d'onda bifasica riduce notevolmente la contrazione del muscolo, ma genera anche un danno significativamente minore. Ad oggi, la forma d'onda ottimale in termini di efficacia e sicurezza da utilizzare per l'ablazione delle aritmie cardiache non è ancora stata definita.

3.4 Design di catetere

Il campo elettrico, su cui si basa la terapia di PFA, viene trasferito ai tessuti grazie a movimenti di corrente elettrica; perciò, il design del catetere, in particolare il numero di elettrodi e la loro configurazione, deve essere adeguato a generare una lesione sufficientemente profonda. Inoltre, l'efficacia del trattamento viene influenzata dalle caratteristiche di forma, materiale e superficie, che determinano direttamente la densità di corrente all'interfaccia elettrodo-tessuto. In una disposizione bipolare gli elettrodi attivi sono adiacenti e in prossimità del tessuto titolato, in seguito, attivandoli simultaneamente, si ottengono una o più coppie di elettrodi che emettono la terapia. Al contrario, in una disposizione monopolare la corrente circola tra un elettrodo posto sul catetere ablatore ed un elettrodo dispersivo posto sulla pelle.

Le configurazioni ad elettrodi bipolari si prestano bene alla rapida generazione di lesioni circolari in tessuti sottili, mostrando invece pratiche limitazioni nei tessuti più spessi. La configurazione monopolare si mostra, al contrario, più adatta a trattamenti profondi (> 2 mm) con un basso rischio termico, ma con una potenziale contrazione muscolare inadeguata. Elettrodi in disposizione monopolare focale sono invece ideali per generare degli effetti in profondità, ma richiedono attivazioni multiple per raggiungere l'isolamento contiguo nei target tissutali. Di conseguenza, la scelta della disposizione degli elettrodi dipende dallo scopo del trattamento.

Un altro fattore da tenere in considerazione durante la somministrazione della terapia è la forma del catetere che può essere lineare, a palloncino, ad ago, circolare, a cestello o in lattice⁴¹⁻⁵¹ (*Figura 10*). Un primo tipo di catetere è quello a forma sferica a 9 mini-elettrodi, capaci di alternare il loro funzionamento da energia a RF o ablazione a campo pulsato. L'energia viene inviata sotto forma di fascio bifasico monopolare. Un altro modello attualmente sotto osservazione, proposto da Medtronic, è quello circolare a 9 elettrodi con configurazione bifasica bipolare. Ancora, l'ultimo modello di *FaraPulse*, proposto da Boston Scientific (*Figura 11*), presenta 5 linguette (spline), ognuna contenente 4 elettrodi, che inviano energia in maniera bifasica bipolare. Nel solo anno 2021, quasi 2000 pazienti in 9 paesi sono stati trattati con questa nuova tecnologia. È già stato annunciato che nei prossimi anni anche altre aziende, come Medtronic ed Abbott, lanceranno sul mercato i loro modelli di catetere per l'ablazione a campo elettrico pulsato.

Organization	University of Utrecht	Farapulse	AtriAN	Medtronic PFA	Affera	Galaxy
Primary Catheter Style	Circular: 10 electrodes	Basket/Flower: 5 splines with 4 electrodes each	Focal catheter & glove	Circular: 9 electrodes	Large focal basket	Focal
Catheter Image						
Electrode Configuration	Monopolar	Bipolar	Monopolar	Bipolar	Monopolar	Monopolar
Waveform Style	Long Monophasic (Exponential Decay)	Biphasic	Monophasic	Biphasic	Biphasic	Biphasic
Target Applications	Endocardial atrial ablation	Endocardial atrial ablation	Neuronal ganglionated plexus	Endocardial atrial ablation	Endocardial atrial ablation	Endocardial atrial ablation
Guidance	Fluoroscopy	Fluoroscopy	Epicardial Access	Fluoroscopy	Proprietary 3D electroanatomical mapping	Existing 3D electroanatomical mapping systems

Figura 10: Sommario dei sistemi a campo elettrico pulsato attualmente sotto osservazione o approvati per l'ablazione cardiaca umana (Fonte: <https://www.ahajournal.org/>)

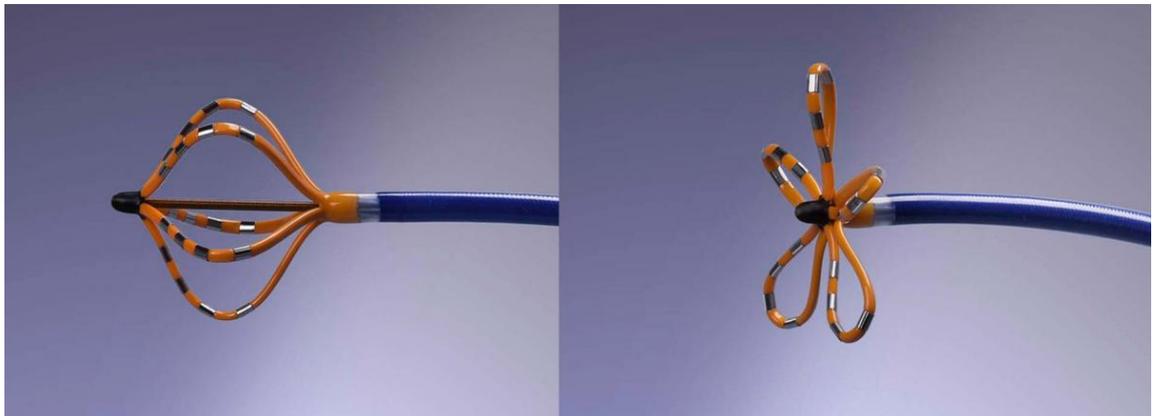


Figura 11: Catetere del sistema FARAPULSE acquisito dalla Boston Scientific nel 2021 per l'ablazione a campo pulsato. Il catetere, che presenta 5 spline mobili (ognuna con 4 elettrodi, per un totale di 20 elettrodi), può assumere diverse forme: a "basket" (sinistra) o a "flower" (destra). (Fonte: <https://www.bostonscientific.com/en-EU/products/catheters-ablation/farapulse/pfa-therapy.html>)

3.4.1 Sistema FARAPULSE

FaraPulse è stata la prima tecnologia ad essere usata nell'uomo e l'unica ad oggi ad aver ottenuto la marchiatura CE nel 2021. Nello stesso anno, Boston Scientific l'ha integrata nel proprio portafoglio di prodotti per il trattamento della fibrillazione atriale.

Si compone di tre parti principali: FARAWAVE, FARADRIVE e FARASTAR (*Figura 12*). Il catetere FARAWAVE è un dispositivo multi-elettrodo per ablazione a campo pulsato che si collega elettricamente al generatore. Il catetere ablatore è costituito da una sezione distale pentaspline, cioè a cinque linguette, che può assumere tre diverse configurazioni: non inserito, parzialmente inserito (*a basket*), completamente inserito (*a flower*); è presente, inoltre, un albero non deformabile ed un manipolo prossimale per l'inserimento manuale. La guaina orientabile FARADRIVE permette l'introduzione del catetere percutaneo nel sistema vascolare e nelle camere del cuore. La guaina, con una lunghezza utile di 74 cm, può essere utilizzata con aghi e fili per eseguire la procedura transettale, inoltre, facilita il posizionamento del catetere. L'ultimo componente, FARASTAR, è il generatore di campo elettrico per l'ablazione del tessuto cardiaco, e consiste in uno stimolatore cardiaco a due canali, che può essere utilizzato per l'erogazione di energia in modalità sincrona. È presente anche un componente accessorio del generatore, il modulo del sistema di registrazione (SRM), cioè un'unità di filtraggio/protezione posta tra il paziente e altre apparecchiature.



Figura 12: Sistema FARAPULSE costituito dai tre componenti: catetere FARAWAVE, guaina FARADRIVE e generatore FARASTAR. (Fonte: <https://www.bostonscientific.com/en-EU/products/catheters-ablation/farapulse/pfa-therapy.html>)

3.5 Complicazioni e possibili effetti indesiderati su altri tessuti

Parlando del trattamento PFA, una delle complicazioni procedurali più serie e da tenere in considerazione durante l'isolamento delle vene polmonari è il danno collaterale all'esofago durante l'ablazione del lato posteriore dell'atrio sinistro, che ha il potenziale rischio di evolversi in fistole atrio-esofagee o ulcere. In particolare, applicazioni dirette di PFA all'esofago possono generare delle lesioni transmurali nei vari strati delle cellule. Ciononostante, la matrice extracellulare rimane intatta e la zona affetta va incontro ad un processo di guarigione nelle settimane successive al trattamento. A 4 settimane dall'erogazione della terapia il parenchima esofageo è quasi normale, per diventare quasi indistinguibile dopo 3 mesi.

In un recente studio⁵², i ricercatori hanno osservato come l'esofago vada incontro a tre diversi stadi dopo il trattamento di ablazione a campo pulsato: nella prima fase si riscontrano la morte cellulare, edema tissutale, infiltrazione infiammatoria e decellularizzazione. Nel secondo stadio subentrano la rigenerazione proliferazione e rivascolarizzazione cellulare. Infine, l'ultima fase è caratterizzata dal rimodellamento del tessuto ablato. In conclusione, la PFA non provoca danni esofagei irreversibili e può essere ritenuta una modalità di terapia sicura.

Di particolare interesse per l'ablazione cardiaca sono i prerequisiti di sicurezza del nervo frenico e nervo vago. Esperimenti e simulazioni numeriche hanno dimostrato l'alta resilienza dei nervi nei confronti della PFA: in un test effettuato su tre modelli porcini è stato catturato il nervo frenico attraverso il movimento del catetere ablatore in prossimità della vena cava superiore. Il punto di cattura è stato ottenuto usando delle stimolazioni ad impulsi di 2 ms. Una volta posizionato il catetere, è stata somministrata la terapia di PFA con una dose in grado di creare un danno profondo (>5 mm), dopodiché il test è stato immediatamente ripetuto. A distanza di 28 giorni dal trattamento di PFA per l'isolamento della vena cava, tutti e 3 i maiali hanno mostrato nervi frenici intatti e privi di danni, con una linea di lesione trasmurale ben demarcata⁵³ (*Figura 13*).



Figura 13: Istologia a 28 giorni dal trattamento tramite colorazione con ematossilina-eosina. (A) Fibrosi nel sito di trattamento della vena cava superiore. Limitati vasi sanguigni; (B) Fibrosi nel sito di trattamento della vena polmonare destra superiore; (C) Il nervo frenico destro appare privo di anomalie macroscopiche; (D) Fotografia al microscopio ottico del nervo frenico: si nota una struttura normale; (E) Sezione del nervo frenico integra dal punto di vista strutturale. (Fonte: <https://www.ahajournal.org/>)

Un ulteriore tessuto di particolare preoccupazione durante l'ablazione cardiaca è quello vascolare, comprese le vene polmonari e i vasi coronarici. L'erogazione sicura della terapia prevede quindi lo scongiurare di stenosi in risposta alla PFA. Nonostante le soglie di campo elettrico per l'epitelio vascolare, fibroblasti e cellule muscolari lisce possono essere comparabili a quella dei cardiomiociti, la matrice extra-cellulare rimane integra e la struttura recupera pienamente le sue funzioni, senza indurre a stenosi vascolare. La reazione delle vene polmonari ai differenti metodi di ablazione è di particolare importanza vista la centralità del PVI in ogni strategia di fibrillazione atriale. Da uno studio diretto dei casi di stenosi di vena polmonare, nel primo caso derivante dal trattamento a campo pulsato e nel secondo caso dovuta ad ablazione RF (25-30 W), è emersa una riduzione del 6% della sezione trasversale della vena sottoposta a PFA, percentuale notevolmente inferiore se paragonata ad una riduzione del 46% nel caso di radiofrequenza⁵⁴.

Un effetto collaterale comune dovuto alle terapie di ablazione cardiaca basate sull'energia è la formazione di microemboli gassosi. La generazione di micro e macrobolle nei fluidi può essere facilmente visualizzata grazie ad un ecocardiografo intracardiaco effettuato durante l'erogazione del trattamento a base di energia, come RF o PFA. Tuttavia, il processo di formazione di tali bolle può essere diverso a seconda della sorgente di energia utilizzata. Nell'ablazione ad impulsi, le microbolle sono il risultato dell'idrolisi o dal dislocamento di nitrogeno dal sangue; in opposizione alla radiofrequenza, dove le microbolle rappresentano un surriscaldamento del tessuto e dei fluidi adiacenti. La capacità delle bolle di compromettere il normale flusso sanguigno dipende dalle dimensioni, dal numero, dal volume totale e dal tempo di dissoluzione delle bolle stesse. In uno studio clinico condotto da Loh et al.⁵⁵, la generazione di

microbolle in seguito a PFA monofasica è risultata essere dipendente dalla quantità di carica inviata (100-200 J) e se in modo anodico o catodico. In un ulteriore esperimento (non pubblicato) è stata utilizzata l'ecocardiografia intracardiaca per visualizzare la camera ventricolare sinistra di un modello porcino, sottoponendola a PFA con forma d'onda basica e successivamente avanzata. Il trattamento è stato ripetuto sotto le stesse condizioni, ma andando a visualizzare la carotide utilizzando un ecografo Doppler in grado di rilevare la presenza di microbolle (*Figura 14*). Il sistema è stato in grado di dimostrare la crescente sicurezza della terapia PFA avanzata, non affetta da episodi di formazioni gassose.



Figura 14: caratterizzazione ecocardiografica di microemboli gassosi dovuti a PFA con e senza l'utilizzo di forme d'onda per la riduzione di microbolle. (Sinistra) Ecografia intracardiaca del ventricolo sinistro porcino dimostra bolle visibili (rosse) usando una forma d'onda basica. (Destra) Ecografia Doppler della carotide porcina mostra la presenza di microbolle dovute a forma d'onda bifasica basica e l'assenza di esse utilizzando una forma d'onda avanzata. (Fonte: <https://www.ahajournal.org/>)

CAPITOLO 4 – RISULTATI CLINICI

4.0 Compendio clinico

L’ablazione a campo elettrico pulsato che sfrutta il meccanismo di elettroporazione irreversibile è una tecnica innovativa di recentissima scoperta, sulla quale si effettuano test clinici e validazioni per l’utilizzo umano solo a partire dal 2019. Di seguito verrà riportato il compendio clinico che riassume i vari studi pubblicati fino ad oggi.

2021
I. <i>“Does pulsed field ablation regress over time? A quantitative temporal analysis of pulmonary vein isolation.”</i> Kawamura I, Neuzil P, Shrivamurthy P, et al.; Heart Rhythm; (https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2021.02.020)
II. <i>“Pulsed field ablation prevents chronic atrial fibrotic changes and restrictive mechanics after catheter ablation for atrial fibrillation”</i> Nakatani Y, Sridi-Cheniti S, Cheniti G, et al.; Europace; (https://doi.org/10.1093/europace/euab155)
III. <i>“Pulsed Field Ablation of Paroxysmal Atrial Fibrillation: 1-Year Outcomes of IMPULSE, PEFCAT, and PEFCAT IP”</i> Reddy VY, Dukkipati SR, Neuzil P, et al.; JACC-EP; (https://doi.org/10.1016/j.jacep.2021.02.014)
IV. <i>“How does the level of pulmonary venous isolation compare between pulsed field ablation and thermal energy ablation (radiofrequency, cryo, or laser)?”</i> Kawamura I, Neuzil P, Shivamurthy P, et al.; Europace; (https://doi.org/10.1093/europace/euab150)
V. <i>“Pulsed field ablation selectively spares the oesophagus during pulmonary vein isolation for atrial fibrillation”</i> Cochet H, Nakatani Y, Sridi-Cheniti S, et al.; Europace; (https://doi.org/10.1093/europace/euab090)
VI. <i>“Pulsed Field Ablation: A Promise that came true”</i> Ante A, Breskovic T, Sikiric I.; Current Opinion in Cardiology; (DOI: 10.1097/HCO.0000000000000810)
2020

VII.	“ <i>Pulsed Field Ablation in Patients with Persistent Atrial Fibrillation</i> ” Reddy VY, Anic A, Koruth J, et al. JACC; (https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.07.007)
VIII.	“ <i>Ostial dimensional changes after pulmonary vein isolation: Pulsed field ablation vs radiofrequency ablation</i> ” Kuroki K, Whang W, Eggert C, et al.; Heart Rhythm; (https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2020.04.040)
2019	
IX.	“ <i>Pulsed Field Ablation for Pulmonary Vein Isolation in Atrial Fibrillation</i> ” Reddy VY, Neuzil P, Koruth JS, et al.; JACC; (https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.04.021)

- I. Sono stati sottoposti pazienti con FA parossistica ad isolamento delle vene polmonari attraverso l’uso di una forma d’onda bifasica e utilizzando un catetere in configurazione multielettrodo basket/flower. I mapping a voltaggio effettuati subito dopo l’erogazione della terapia e a 84 giorni di distanza da essa non hanno mostrato sostanziali differenze né nella porzione di antro di PV, né nella porzione di parete posteriore non ablata. In conclusione, il livello di isolamento elettrico dell’ostio di vena polmonare è rimasto invariato.
- II. È stata effettuata la risonanza magnetica cardiaca (CMR) pre-ablazione, a 3 ore dalla terapia e a tre mesi post-ablazione in 41 pazienti affetti da FA parossistica che si sono sottoposti ad isolamento delle vene polmonari (18 con FaraPulse, 16 con radiofrequenza e 7 con crioablazione). I cambiamenti tissutali sono risultati essere più omogenei dopo il trattamento a campo pulsato rispetto alle tecniche di ablazione termiche. Inoltre, non sono stati riscontrati danni microvascolari o emorragie intramurali.
- III. In tre studi multicentrici sono stati sottoposti a isolamento delle vene polmonari pazienti affetti da FA parossistica attraverso l’utilizzo di un catetere in configurazione basket/flower: i risultati ottenuti si sono rilevati eccellenti sia in termini di durabilità che in termini di efficacia e sicurezza.
- IV. In questo studio, pazienti con FA parossistica sono stati suddivisi in due coorti in base alla tecnica ablativa utilizzata: PFA e ablazione termica (radiofrequenza e crioenergia). Sia nella porzione ablata di vene polmonari che nella porzione di

parete posteriore non ablata, non sono risultate visibili differenze tra il gruppo PFA e il gruppo sottoposto ad ablazione termica.

- V. È stata effettuata la risonanza magnetica cardiaca (CMR) pre-ablazione, a 3 ore dalla terapia e a tre mesi post-ablazione in 41 pazienti affetti da FA parossistica che si sono sottoposti ad isolamento delle vene polmonari (18 con FaraPulse, 16 con radiofrequenza e 7 con crioablazione). Danni a livello aortico ed esofageo sono stati analizzati grazie all'imaging con late-gadolinium-enhancement (LGE). Il nervo frenico è stato invece valutato tramite fluoroscopia. Nel caso dei pazienti sottoposti a PFA, non sono stati riscontrati danni collaterali, risultato riconducibile all'elevata selettività tissutale della tecnica.
- VI. Risultati promettenti riguardanti la PFA per il trattamento della fibrillazione atriale sono stati recentemente supportati da dati clinici derivati da 1 anno di follow-up clinico. È probabile che la PFA con un design di catetere per lesioni circonferenziali diventi in futuro la modalità dominante per la PVI.
- VII. In questo studio effettuato su 25 pazienti, è stato ottenuto il 100% di isolamento acuto delle vene polmonari attraverso l'uso di un catetere multispline per PFA in modalità bipolare-bifasica. Il profilo di efficacia e sicurezza di tale terapia potenzia il ruolo della PFA, adattandola a diverse tipologie di FA (parossistica, permanente, persistente).
- VIII. Sono stati analizzati dati inerenti a 4 test clinici di ablazione (PFA e RF) per il trattamento della FA parossistica: a tre mesi dalla terapia, il ricollegamento/stenosi delle vene polmonari è stato rispettivamente dello 0% e 0% nel caso del trattamento a campo elettrico pulsato, e del 12% e 32.5% nel caso di ablazione a radiofrequenza.
- IX. In questo studio comprendente 81 pazienti, tutte le vene sono state isolate in maniera acuta attraverso PFA monofasica (n=15) o bifasica (n=66). Il re-mapping effettuato a tre mesi dalla terapia ha dimostrato assenza di danni ai tessuti vicini ed eccellente durabilità.

4.1 Isolamento delle vene polmonari: confronto tra PFA e ablazioni termiche

In un test clinico (NCT03714178)⁵⁶, pazienti affetti da fibrillazione atriale parossistica sono stati sottoposti al trattamento di isolamento delle vene polmonari, grazie all'utilizzo di un catetere per PFA multi-elettrodo a cinque spline e una forma d'onda bifasica e, dopo 75 giorni, sono state create delle mappe ad alto voltaggio per la visualizzazione di tali vene. Le mappe sono state comparate a quelle derivanti da pazienti (sempre affetti da FA parossistica) che: (i) si sono sottoposti a PVI usando energia termica, (ii) hanno subito un trattamento di riablazione per recidiva; (iii) avevano un isolamento delle vene polmonari duraturo.

Le caratteristiche dei pazienti sono schematizzate nella tabella (*Figura 15*): l'età media del gruppo sottoposto a PFA era più giovane rispetto al gruppo relativo ad ablazione termica. Altre caratteristiche erano simili per entrambi i gruppi e ricollocabili ai sintomi di pazienti con FA parossistica: predominanza maschile, atrio sinistro leggermente dilatato. I pazienti relativi al gruppo di ablazione termica sono stati sottoposti nuovamente alla procedura ablativa solamente dopo una recidiva di FA, inoltre, il follow-up di tali pazienti è risultato più lungo rispetto al gruppo con PFA.

	Thermal energy ablation				P-value*
	PFA n=20	Total n=39	RFA n=29	Balloon ablation n=10 (Cryo n=6, VGLB n=4)	
Age, years ± SD	56.9±11.0	66.1±9.3	66.4±8.4	65.1±12.1	0.001
Male	15 (75.0)	25 (64.1)	19 (65.5)	6 (60.0)	0.40
LA diameter, mm ± SD	41.7±5.0	41.1±6.0 (n=32)	41.4±6.4 (n=27)	39.6±3.8 (n=5)	0.39
LVEF, % ± SD	63.6±3.7	60.8±7.5 (n=35)	60.9±7.8 (n=28)	60.6±6.7 (n=7)	0.07
Hypertension	13 (65.0)	24 (61.5)	20 (69.0)	4 (40.0)	0.80
Diabetes	2 (10.0)	5 (12.8)	3 (10.3)	2 (20.0)	1
Stroke or TIA	1 (5.0)	2 (5.1)	2 (6.9)	0 (0)	1
CAD (MI/CABG)	0 (0.0)	2 (5.1)	2 (6.9)	0 (0)	0.54
Left common PV	2 (10.0)	4 (10.3)	3 (10.3)	1 (10)	1
Redo procedure date, day (IQR)	84 (69–90)	758 (319–1287) (n=37)	708 (310–1326) (n=28)	821 (316–1622) (n=9)	<0.001

Figura 15: Pazienti sottoposti a PFA: 20; Pazienti sottoposti ad ablazione termica: 39 (29 con radiofrequenza, 10 con ablazione a palloncino). CABG: bypass con innesto dell'arteria coronaria; CAD: malattia coronarica; LA: atrio sx; LVEF: frazione di eiezione ventricolare sx; MI: infarto miocardico; PFA: ablazione a campo pulsato; PV: vena polmonare; RFA: ablazione a radiofrequenza; VGLB: laser

guidato a palloncino. Il P-value compara PFA (n=20) all'ablazione termica (n=39). (Fonte: <https://doi.org/10.1093/europace/euab150>)

Il numero di elettrogrammi acquisiti mediante catetere ablatore è stato 874 nel gruppo PFA e 940 nel gruppo con ablazione termica. Le mappe a voltaggio sono state create per la maggior parte dei casi durante il ritmo sinusale (55 di 59, 93.2%), mentre altre durante le fluttuazioni atriali atipiche (4 di 59, 6.8%). L'area di isolamento di ogni antro di vena polmonare è risultata essere circa la stessa per i due gruppi (Figura 16). Le aree totali ablate e non-ablate della parete posteriore sono risultati altrettanto comparabili ($11.0 \pm 3.4 \text{ cm}^2$ vs. $10.6 \pm 3.4 \text{ cm}^2$; (P = 0.70) e $10.7 \pm 3.7 \text{ cm}^2$ vs. $10.7 \pm 4.1 \text{ cm}^2$; (P = 1.00). Infine, anche l'area complessiva della parete posteriore atriale sinistra è risultata simile tra i due gruppi (P = 0.79).

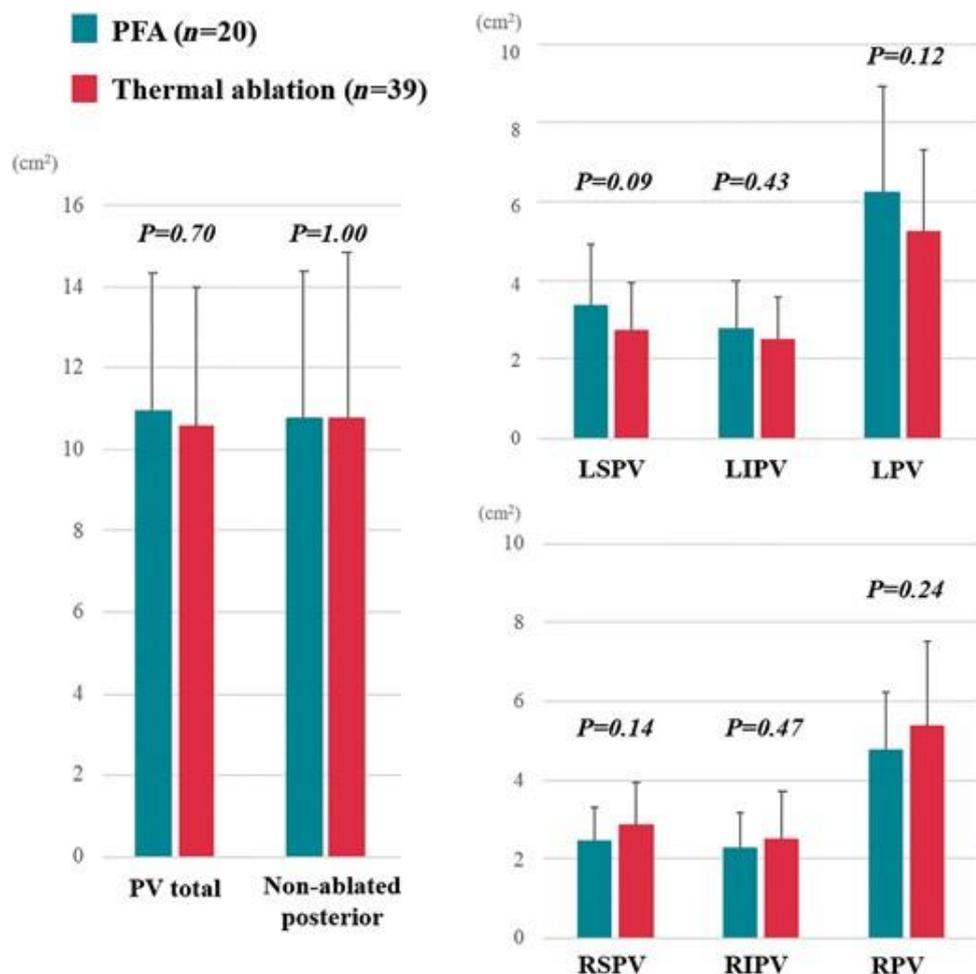


Figura 16: Confronto tra PFA e ablazione termica. L'area di PVI e l'area di parete atriale posteriore non-ablata tra i due gruppi è pressoché simile. LIPV: vena polmonare inferiore sx; LPV: vena polmonare superiore sx; LSPV: vena polmonare superiore dx; RIPV: vena polmonare inferiore dx; RPV: vena polmonare superiore dx; RSPV: vena polmonare superiore dx. (Fonte: <https://doi.org/10.1093/europace/euab150>)

Nonostante non ci siano stati casi clinici di stenosi di vene polmonari, l'imaging CT cardiaco tra la procedura iniziale e quella rifatta dopo la recidiva è stato effettuato solo su 7 dei 39 pazienti (17.9%) del gruppo a trattamento termico. Il tempo intercorso tra l'ablazione iniziale e il mappaggio si è rivelato essere più lungo nel caso dell'ablazione a energia termica rispetto alla PFA. Infine, la dimensione del campo elettrico può variare in relazione a svariati fattori, inclusi la forma del catetere, la configurazione di elettrodo, il tipo di impulsi, la durata, la frequenza e la strategia adottata, che determinano diversi profili di lesione ed efficacia. Perciò, in relazione a quanto detto finora, ogni sistema deve essere valutato in modo indipendente ed i risultati di tale studio devono essere considerati limitatamente a questo particolare tipo di catetere PFA, cioè a pentaspline con forma d'onda bipolare bifasica.

4.2 FaraPulse: dati clinici di efficacia, sicurezza ed efficienza

In tre studi multicentrici (IMPULSE, PEFCAT, PEFCAT II)⁵⁷ sono stati sottoposti a PVI tramite catetere per ablazione a campo pulsato (in configurazione basket/flower) 121 pazienti affetti da FA parossistica, e suddivisi rispettivamente in gruppi in base alla forma d'onda utilizzata per la terapia. I tre studi rappresentano il primo tentativo di utilizzo della PFA su uomo per il trattamento di tale aritmia. I risultati primari di efficacia hanno dimostrato che l'isolamento elettrico delle vene polmonari è stato raggiunto al 100%, su un target totale di 475 vene polmonari, validato da mappa di voltaggio post-ablazione. Tutte le vene avevano una media di 7.2 ± 2.2 cm² di lesione ablata per vena polmonare e 28.1 ± 8.5 cm² di lesione per paziente (*Figura 17*). Tutte le vene sono state isolate in maniera acuta tra la prima e la seconda applicazione, inoltre, non è stato riscontrato alcun caso di riconnessione delle vene durante il periodo di osservazione o con il test dell'adenosina.

	Total Cohort (N = 121)*	Monophasic PF Waveform (n = 15)	Biphasic PF Waveforms	
			Early/Other (n = 57)	Optimized (n = 49)
PVI success	475/475 (100)	57/57 (100)	223/223 (100)	195/195 (100)
Number of lesions/PV				
Combined PVs	7.2 ± 2.2	3.3 ± 0.5	6.9 ± 1.6	8.7 ± 1.5
LCPV	12.9 ± 6.1	6.3 ± 0.6	10.2 ± 2.5	18.5 ± 4.7
LSPV	7.3 ± 2.4	3.0 ± 0.0	7.1 ± 2.0	8.6 ± 1.7
LIPV	6.9 ± 2.2	3.0 ± 0.0	6.5 ± 1.5	8.5 ± 1.6
RSPV	7.2 ± 2.4	3.4 ± 1.1	7.1 ± 2.1	8.5 ± 1.6
RIPV	6.9 ± 2.5	3.0 ± 0.0	6.5 ± 2.1	8.6 ± 1.6

Figura 17: I valori sono riferiti ad n/N (%) o media ± PV: vena polmonare; LCPV: vena polmonare sx comune; LIPV: vena polmonare inferiore sx; LSPV: vena polmonare superiore sx; RSPV: vena polmonare superiore dx; RIPV: vena polmonare inferiore dx. (Fonte: doi.org/10.1016/j.jacep.2021.02.014)

Per quanto riguarda i parametri di sicurezza, la PFA si è dimostrata sicura, con un tasso di eventi avversi primari del 2.5% (Figura 18): nello specifico, sono stati riscontrati 2 casi di versamento pericardico. Nel primo paziente, il versamento è risultato riconducibile ad una scorretta manipolazione del catetere ablatore e mappatore che ha portato ad un tamponamento cardiaco. Nel secondo caso, un piccolo versamento ematico è stato riscontrato ore dopo la procedura di re-mapping, in cui il catetere è stato utilizzato per ablare nuovamente una riconnessione di vene polmonari. Infine, è stato registrato un caso di ematoma vascolare.

Non è stato registrato nessun altro caso di complicazione dovuta all'ablazione durante il follow-up e, di particolare importanza per lo studio, non vi sono stati danni collaterali quali fistole atrio-esofagee⁵⁸, paralisi del nervo frenico, infarti o stenosi di vene polmonari. L'esofagogastroduodenoscopia (EGD) è stata eseguita in 38 pazienti e non ha rivelato eventuali lesioni esofagee ($4,9 \pm 1,9$ giorni dopo). È stata inoltre eseguita la risonanza magnetica cardiaca (CMR) in 18 pazienti al fine di visualizzare la formazione di lesioni acute, che ha rivelato un enhancement atriale omogeneo nel sito di ablazione attorno alle vene polmonari, ma nessun enhancement esofageo adiacente. Al termine della procedura, è stata effettuata la fluoroscopia in tutti i 121 paziente ed è stato valutato il movimento del diaframma, prima e dopo l'ablazione, per osservare i cambiamenti nella funzione del nervo frenico; quindi, non è stata osservata nessuna paresi o paralisi del nervo frenico. Per quanto riguarda le vene polmonari, è stato eseguito un re-mapping per 110 pazienti a 3 mesi dal trattamento e non vi è stato nessun riscontro di

restringimento/stenosi (definita come riduzione delle dimensioni della vena polmonare > 70%).

	CEC Definition per Protocol	Standard Clinical Definition*
Total	3 (2.5)	4 (3.3)
Death	0 (0)	0 (0)
Myocardial infarction	0 (0)	0 (0)
Diaphragmatic paralysis	0 (0)	0 (0)
Stroke or TIA	0 (0)†	1 (0.8)†
Other thromboembolism	0 (0)	0 (0)
Cardiac perforation or tamponade	2 (1.7)‡	1 (0.8)‡
Vascular complications	1 (0.8)§	2 (1.7)§
PV stenosis >70%	0 (0)	0 (0)
Atrioesophageal fistula,	0 (0)	0 (0)
Pericarditis requiring intervention	0 (0)	0 (0)
Pulmonary edema	0 (0)	0 (0)

Figura 18: Totale pazienti: 121. Totale casi avversi registrati: 3 (2.5%), 1 tamponamento cardiaco, 1 versamento pericardico e 1 edema vascolare. (Fonte: doi.org/10.1016/j.jacep.2021.02.014, Pulsed Field Ablation of Paroxysmal Atrial Fibrillation: 1-Year Outcomes of IMPULSE, PEFCAT, and PEFCAT II)

Come detto precedentemente, i 121 pazienti sono stati sottoposti alla terapia di ablazione a campo pulsato secondo tre diversi gruppi di trattamento: 11 pazienti con forma d'onda monofasica, 55 pazienti con forma d'onda bifasica e 44 pazienti con forma d'onda bifasica ottimizzata. A distanza di 75-90 giorni, tutti i gruppi sono stati sottoposti a mappaggio per confermare l'isolamento elettrico. Da qui è emerso che il campione monofasico aveva mantenuto un isolamento nel 45% delle vene polmonari (18% dei pazienti), la bifasica precoce un isolamento nel 84% (58% dei pazienti), mentre il gruppo sottoposto a bifasica ottimizzata, con 8 applicazioni accoppiate di “basket” e “flower”, aveva un isolamento duraturo del 96% delle vene polmonari (84% dei pazienti)⁵⁹ (Figura 19).

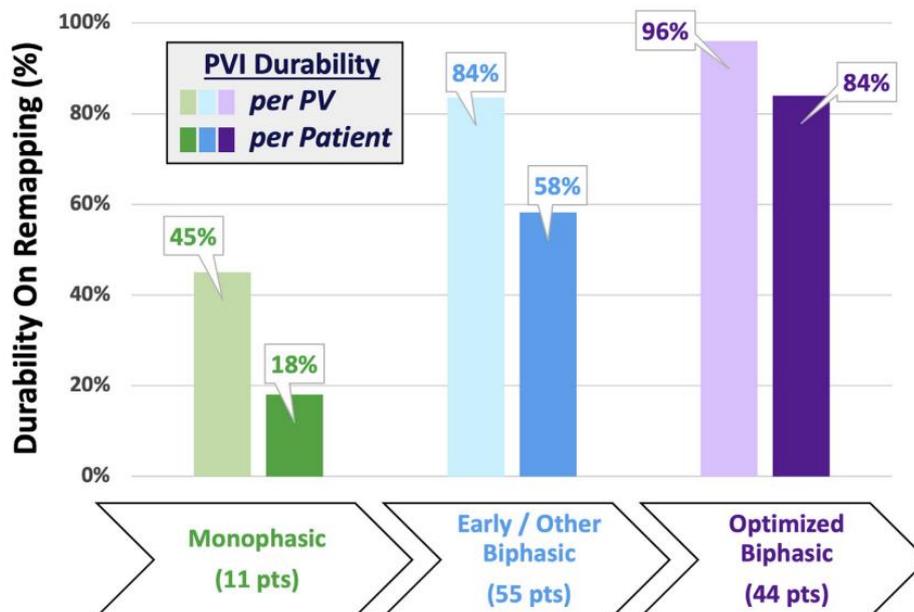


Figura 19: Mantenimento dell'isolamento elettrico delle vene polmonari dopo l'ablazione a campo pulsato. Le colonne di sx indicano la percentuale calcolata sul totale di vene polmonari, le colonne di dx indicano la percentuale in relazione al numero di pazienti totali. Come si può notare, la durata mantenuta di isolamento aumenta notevolmente passando dalla forma d'onda monofasica alla forma d'onda bifasica ottimizzata. (Fonte: doi.org/10.1016/j.jacep.2021.02.014, Pulsed Field Ablation of Paroxysmal Atrial Fibrillation: 1-Year Outcomes of IMPULSE, PEFCAT, and PEFCAT II)

Tali risultati mostrano come l'isolamento acuto non equivalga a lesioni durevoli, inoltre sottolinea l'importanza di un mappaggio dopo circa 3 mesi per confermare l'isolamento duraturo per i singoli sistemi.

Oltre a questi dati, è stata utilizzata una stima Kaplan-Meier (nella ricerca medica, si usa spesso per misurare la frazione di pazienti che vivono per una certa quantità di tempo dopo il trattamento) ad un anno dalla terapia per valutare l'assenza di recidive da aritmie atriali: la stima ha riportato un'assenza di fibrillazione atriale del $81.1 \pm 3.8\%$, e assenza di FA, flutter atriale o tachicardia atriale del $78.5 \pm 3.8\%$ (Figura 20). Le percentuali sono leggermente superiori ($84.5\% \pm 5\%$) se si considera solamente il gruppo di pazienti sottoposti a forma d'onda bifasica ottimizzata.

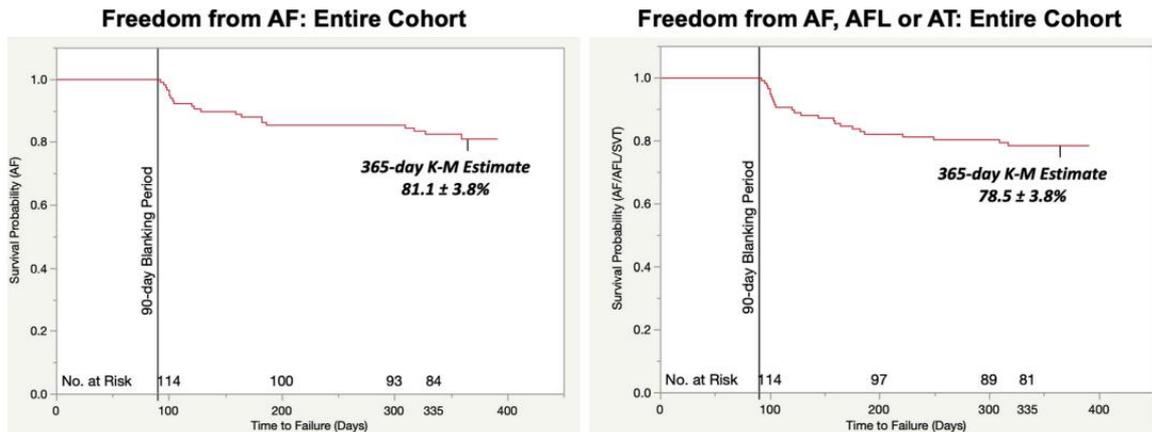


Figura 20: Diagramma della stima di Kaplan-Meier della curva di sopravvivenza a un anno dall'ablazione con le percentuali di assenza di recidive: assenza di FA nell'intero gruppo di 121 pazienti (sinistra), assenza di FA, flutter atriale o tachicardia nell'intero gruppo (destra). (Fonte: doi.org/10.1016/j.jacep.2021.02.014, Pulsed Field Ablation of Paroxysmal Atrial Fibrillation: 1-Year Outcomes of IMPULSE, PEFCAT, and PEFCAT II)

Infine, si valuta la tecnologia FaraPulse in termini di efficienza. I tre studi hanno mostrato un tempo di procedura di 96 minuti, inclusi circa 20 minuti per il mapping post-isolamento richiesti dal protocollo di studio. Il tempo di permanenza del catetere nell'atrio sinistro, definito come il tempo intercorso tra l'introduzione e la rimozione del catetere PFA nella camera atriale, è stato di 34 minuti. Questo risultato è paragonabile allo studio "Fire and Ice", trattato nel paragrafo 2.3, che ha registrato tempi di procedura di 124 minuti e di permanenza in atrio sinistro di 92 minuti per la crioablazione, e di 141 minuti di procedura e 109 minuti di permanenza in atrio sinistro per la radiofrequenza (Figura 21).

Study Procedure Times: PFA, Cryo & RF			
IMPULSE, PEFCAT, & PEFCAT II vs. Fire & Ice			
	FARAPULSE ¹	Cryo ²	RF ²
Procedure Time	96 minutes* 96.2 ± 30.3	124 minutes 124.4 ± 39	141 minutes 140.9 ± 54.9
Left Atrial Dwell Time	34 minutes 34.4 ± 15.8	92 minutes 92.3 ± 31.4	109 minutes 108.6 ± 44.9
Fluoroscopy Time	14 min 13.7 ± 7.8	22 min 21.7 ± 13.9	17 min 16.6 ± 17.8

* Inclusive of time required (~19 min) to perform protocol-mandated voltage mapping.
Cumulative PFA therapy delivery time did not exceed 3 min/patient.

Figura 21: Tempi di procedura, permanenza in atrio sx e fluoroscopia nel caso di PFA, crio e radiofrequenza (studio IMPULSE, PEFCAT, PEFCAT II vs. Fire and Ice). Tutti e tre i tempi sono più corti nel caso di ablazione a campo pulsato. (Fonte: doi.org/10.1016/j.jacep.2021.02.014, Pulsed Field Ablation of Paroxysmal Atrial Fibrillation: 1-Year Outcomes of IMPULSE, PEFCAT, and PEFCAT II)

Riassumendo, gli studi condotti fino ad oggi sul sistema FARAPULSE hanno dimostrato un isolamento in acuto del 100% e, grazie all'ottimizzazione delle forme d'onda e delle applicazioni, si è ottenuto un 96% di mantenimento dell'isolamento delle vene polmonari a circa 3 mesi e dell'85% \pm 5% di libertà da aritmie atriali ad un anno.

4.3 Conclusioni e prospettive future

L'ablazione a campo elettrico pulsato (PFA) è una nuova e promettente tecnologia per il trattamento delle aritmie cardiache, in particolar modo la fibrillazione atriale, specialmente grazie all'efficacia e alla sicurezza mostrate nell'erogazione dell'ablazione cardiaca. La sua natura non termica, e dunque la capacità caratteristica di provocare la morte della cellula attraverso dei meccanismi che non danneggiano la matrice extracellulare, rendono sicure le applicazioni di PFA anche vicino a tessuti sensibili a danni collaterali (es. vene polmonari, esofago, nervo frenico). Sebbene le modalità di procedura dell'ablazione termica siano state ben definite in letteratura grazie a decenni di uso in ambito clinico, l'ablazione a campo pulsato è ancora agli albori. Come trattato in questa tesi, vi sono svariati parametri associati all'energia PFA, quali la forma d'onda o la configurazione di elettrodo, che possono essere ulteriormente adattati in modo da ottimizzare l'effetto terapeutico e minimizzare i potenziali rischi: per questo motivo, nonostante le ricerche in questo ambito stiano avanzando rapidamente, è necessaria una maggiore conoscenza dei principi di fondo e delle modalità di applicazione della PFA per sfruttare al meglio questa tecnica e offrire dei miglioramenti di salute vitali e duraturi per i pazienti.

Bibliografia

1. Camm JA et al. 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of AF, *European Heart Journal* 2012, 33:2719–2747.
2. Feinberg WM, Blackshear JL, Laupacis A, Kronmal R, Hart RG: Prevalence, age distribution, and gender of patients with atrial fibrillation. Analysis and implications. *Arch Intern Med* 1995; 155:469-473.
3. Go AS, Hylek EM, Phillips KA, et al.: Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults. National implications for rhythm management and stroke prevention: the Anticoagulation and Risk Factors. In: Atrial fibrillation (ATRIA) study. *JAMA* 2001; 285:2370-2375.
4. National Lung Blood and Heart Institute, National Institutes of Health (NIH), 1 luglio 2011.
5. Nieuwlaat R, Capucci A, Camm AJ, et al.: Atrial fibrillation management: a prospective survey in ESC member countries: the Euro Heart Survey on Atrial Fibrillation. *Eur Heart J* 2005; 26:2422-2434.
6. Levy S, Maarek M, Coumel P, et al.: Characterization of different subsets of atrial fibrillation in general practice in France: the ALFA study. The College of French Cardiologists. *Circulation* 1999; 99:3028- 3035.
7. Kannel, W. B., Wolf, P. A., Benjamin, E. J. & Levy, D. Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: population-based estimates. *Am. J. Cardiol.* 82, 2N–9N (1998).
8. Fuster V, Ryden LE, Cannom DS, et al.: ACC/ AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: executive summary. *Circulation* 2006; 114:2118-2150.
9. Wang TJ, Parise H, Levy D, et al.: Obesity and the risk of new-onset atrial fibrillation. *JAMA* 2004; 292:2471-2477.
10. Tedrow UB, Conen D, Ridker PM, et al.: The long and short-term impact of elevated body mass index on the risk of new atrial fibrillation: The WHS (women’s health study). *J Am Coll Cardiol* 2010; 55:2319-2327.
11. Gupta, A. et al. Complications of catheter ablation of atrial fibrillation: a systematic review. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 6, 1082–1088 (2013).
12. Haïssaguerre, M. et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N. Engl. J. Med.* 339, 659–666 (1998).
13. Haïssaguerre, M. et al. Electrophysiological end point for catheter ablation of atrial fibrillation initiated from multiple pulmonary venous foci. *Circulation* 101, 1409–1417 (2000).

14. Pappone C, Rosanio S, Oreto G, et al. Circumferential radiofrequency ablation of pulmonary vein ostia: a new anatomic approach for curing atrial fibrillation. *Circulation* 2000; 102:2619–28.
15. Oral H, Scharf C, Chugh A, et al. Catheter ablation for paroxysmal atrial fibrillation: segmental pulmonary vein ostial ablation versus left atrial ablation. *Circulation* 2003; 108:2355–60.
16. Chugh A, Oral H, Lemola K, et al. Prevalence, mechanisms, and clinical significance of macroreentrant atrial tachycardia during and following left atrial ablation for atrial fibrillation. *Heart Rhythm* 2005; 2:464–71.
17. Huang SK, Bharati S, Graham AR, Lev M, Marcus FI, Odell RC. Closed chest catheter desiccation of the atrioventricular junction using radiofrequency energy – a new method of catheter ablation. *J Am Coll Cardiol*, 1987;9:349–58.
18. Haines DE. The biophysics of radiofrequency catheter ablation in the heart: the importance of temperature monitoring. *Pacing Clin Electrophysiol* 1993; 16:586–91
19. Gage, A. A., & Baust, J. (1998). Mechanisms of tissue injury in cryosurgery. *Cryobiology*, 37(3), 171–186.
20. Osorio, T. G., Coutino, H. E., Brugada, P., Chierchia, G. B. & De Asmundis, C. Recent advances in cryoballoon ablation for atrial fibrillation. *Expert Rev. Med. Devices* 16, 799–808 (2019).
21. Andrade, J. G. et al. Cryoballoon or radiofrequency ablation for atrial fibrillation assessed by continuous monitoring: a randomized clinical trial. *Circulation* 140, 1779–1788 (2019).
22. Luik, A. et al. Cryoballoon versus open irrigated radiofrequency ablation in patients with paroxysmal atrial fibrillation: the prospective, randomized, controlled, noninferiority FreezeAF study. *Circulation* 132, 1311–1319 (2015).
23. Kuck, K. H. et al. Cryoballoon or radiofrequency ablation for paroxysmal atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 374, 2235–2245 (2016).
24. Brace CL. Microwave tissue ablation: biophysics, technology, and applications. *Crit Rev Biomed Eng* 2010; 38:65–78.
25. Tse HF, Liao S, Siu CW, Yuan L, Nicholls J, Leung G et al. Determinants of lesion dimensions during transcatheter microwave ablation. *Pacing Clin Electrophysiol* 2009; 32:201–8.
26. Neven K, Metzner A, Schmidt B, Ouyang F, Kuck KH. Two-year clinical follow-up after pulmonary vein isolation using high-intensity focused ultrasound (HIFU) and an esophageal temperature-guided safety algorithm. *Heart Rhythm* 2012; 9:407–13.

27. Neven K, Schmidt B, Metzner A, Otomo K, Nuyens D, De Potter T et al. Fatal end of a safety algorithm for pulmonary vein isolation with use of high-intensity focused ultrasound. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2010; 3:260–5.
28. Gonzalez R, Scheinman M, Margaretten W, et al. Closed-chest electrode-catheter technique for His bundle ablation in dogs. *Am J Physiol*, 1981,241(2):H283-H287.
29. Lavee J, Onik G, Mikus P, et al. A novel nonthermal energy source for surgical epicardial atrial ablation: irreversible electroporation. *Heart Surg Forum*, 2007,10(2): E162-E167.
30. Maor E, Sugrue A, Witt C, et al. Pulsed electric fields for cardiac ablation and beyond: A state-of-the-art review. *Heart Rhythm*, 2019,16(7):1112-1120.
31. Ruzgys P, Novickij V, Novickij J, Šatkauskas S. Influence of the electrode material on ROS generation and electroporation efficiency in low and high frequency nanosecond pulse range. *Bioelectrochemistry*. 2019; 127:87–93. doi: 10.1016/j.bioelechem.2019.02.002.
32. Munawar T, Fujimori M, Vista W, Solomon S, Srimathveeravalli G. Abstract No. 368 Changes in pH and not temperature significantly contributes to cell death during IRE performed at low-voltage and high pulse numbers. *J Vasc Interv Radiol*. 2019;30: S162–S163.
33. Rubinsky L, Guenther E, Mikus P, Stehling M, Rubinsky B. Electrolytic effects during tissue ablation by electroporation. *Technol Cancer Res Treat*. 2016;15:NP95–NP103. doi: 10.1177/1533034615601549.
34. Xie F, Varghese F, Pakhomov AG, Semenov I, Xiao S, Philpott J, Zemlin C. Ablation of myocardial tissue with nanosecond pulsed electric fields. *PLoS One*. 2015;10: e0144833. doi: 10.1371/journal.pone.0144833.
35. Kim H B, Sung C K, Baik K Y, et al. Changes of apoptosis in tumor tissues with time after irreversible electroporation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013,435(4):651-656.
36. Long G, Bakos G, Shires P K, et al. Histological and finite element analysis of cell death due to irreversible electroporation. *Technol Cancer Res Treat*, 2014,13(6):561-569.
37. Van den Bos W, Scheffer H J, Vogel J A, et al. Thermal Energy during Irreversible Electroporation and the Influence of Different Ablation Parameters. *J Vasc Interv Radiol*, 2016,27(3):433-443.
38. Bradley C J, Haines D E. Pulsed field ablation for pulmonary vein isolation in the treatment of atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2020,31(8):2136-2147.
39. Thomson K R, Cheung W, Ellis S J, et al. Investigation of the safety of irreversible electroporation in humans. *J Vasc Interv Radiol*, 2011,22(5):611-621.

40. Van Es R, Groen M, Stehouwer M, et al. In vitro analysis of the origin and characteristics of gaseous microemboli during catheter electroporation ablation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2019,30(10):2071-2079.
41. Zager Y, Kain D, Landa N, et al. Optimization of Irreversible Electroporation Protocols for In-vivo Myocardial Decellularization. *PLoS One*, 2016,11(11): e165475.
42. Neven K, van Driel V, van Wessel H, et al. Epicardial linear electroporation ablation and lesion size. *Heart Rhythm*, 2014,11(8):1465-1470.
43. DeSimone C V, Ebrille E, Syed F F, et al. Novel balloon catheter device with pacing, ablating, electroporation, and drug-eluting capabilities for atrial fibrillation treatment--preliminary efficacy and safety studies in a canine model. *Transl Res*, 2014,164(6):508-514.
44. Reddy V Y, Koruth J, Jais P, et al. Ablation of Atrial Fibrillation with Pulsed Electric Fields: An Ultra-Rapid, Tissue-Selective Modality for Cardiac Ablation. *JACC Clin Electrophysiol*, 2018,4(8):987-995.
45. Reddy V Y, Neuzil P, Koruth J S, et al. Pulsed Field Ablation for Pulmonary Vein Isolation in Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol*, 2019,74(3):315-326.
46. Reddy V Y, Anic A, Koruth J, et al. Pulsed Field Ablation in Patients with Persistent Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol*, 2020,76(9):1068-1080.
47. Kuroki K, Whang W, Eggert C, et al. Ostial dimensional changes after pulmonary vein isolation: Pulsed field ablation vs radiofrequency ablation. *Heart Rhythm*, 2020,17(9):1528-1535.
48. Kawamura I, Neuzil P, Shivamurthy P, et al. Does pulsed field ablation regress over time? A quantitative temporal analysis of pulmonary vein isolation. *Heart Rhythm*, 2021,18(6):878-884.
49. Reddy V Y, Anter E, Rackauskas G, et al. Lattice-Tip Focal Ablation Catheter That Toggles Between Radiofrequency and Pulsed Field Energy to Treat Atrial Fibrillation: A First-in-Human Trial. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2020,13(6): e8718.
50. Wittkamp F H, van Driel V J, van Wessel H, et al. Feasibility of electroporation for the creation of pulmonary vein ostial lesions. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2011,22(3):302-309.
51. Verma A, Boersma L, Haines D E, et al. First-in-Human Experience and Acute Procedural Outcomes Using a Novel Pulsed Field Ablation System: The PULSED AF Pilot Trial. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2022,15(1): e10168.
52. Song Y, Zheng J, Fan L. Nonthermal Irreversible Electroporation to the Esophagus: Evaluation of Acute and Long-Term Pathological Effects in a Rabbit Model. *J Am Heart Assoc*, 2021,10(22): e20731.

53. Van Driel VJ, Neven K, van Wessel H, Vink A, Doevendans PA, Wittkampf FH. Low vulnerability of the right phrenic nerve to electroporation ablation. *Heart Rhythm*. 2015; 12:1838–1844. doi: 10.1016/j.hrthm.2015.05.012.
54. Howard B, Haines DE, Verma A, Packer D, Kirchhof N, Barka N, Onal B, Fraasch S, Miklavčič D, Stewart MT. Reduction in pulmonary vein stenosis and collateral damage with pulsed field ablation compared with radiofrequency ablation in a canine model. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2020;13: e008337. doi: 10.1161/CIRCEP.120.008337.
55. Loh P, van Es R, Groen MHA, Neven K, Kassenberg W, Wittkampf FHM, Doevendans PA. Pulmonary vein isolation with single pulse irreversible electroporation: a first in human study in 10 patients with atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2020;13: e008192. doi: 10.1161/ CIRCEP.119.008192.
56. Kawamura I, Neuzil P, Shivamurthy P, Kuroki K, Lam J, Musikantow D, Chu E, Turagam M, Minami K, Funasako M; How does the level of pulmonary venous isolation compare between pulsed field ablation and thermal energy ablation? *Europace*, 2021; <https://doi.org/10.1093/europace/euab150>.
57. Vivek Y. Reddy, MD,a,b Srinivas R. Dukkipati, MD,b Petr Neuzil, MD, PHD,a Ante Anic, MD,c Jan Petru, MD,a Moritoshi Funasako, MD,a Hubert Cochet, MD, PHD,b Kentaro Minami, MD,a Toni Breskovic, MD, PHD,c Ivan Sikiric, MD,c Lucie Sediva, MD,a Milan Chovanec, MD,a Jacob Koruth, MD,b Pierre Jais, MD; <https://doi.org/10.1016/j.jacep.2021.02.014>.
58. Kapur S, Barbhaiya C, Deneke T, Michaud G. Esophageal injury and atri-esophageal fistula caused by ablation for atrial fibrillation. *Circulation*. 2017; 136:1247–55. <https://doi.org/10.1161/ CIRCULATIONAHA.117.025827>.
59. Reddy VY, Neuzil P, Koruth JS, et al. Pulsed field ablation for pulmonary vein isolation in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2019; 74:315–26.

Sitografia

<http://www.preventaf-strokecrisis.org/report/chapter1/>.

<https://aiac.it/medtronic/cardiac-ablation-solutions/cas/>.

<https://www.bostonscientific.com/en-EU/products/catheters-ablation/farapulse/pfa-therapy.html>.

<https://academic.oup.com/europace>.

Ringraziamenti

Diese Bachelorarbeit widme ich meiner Omi, die immer an mich geglaubt hat und sicherlich sehr stolz auf ihre Motte wäre.

Grazie a voi, mamma e papà, che mi avete sempre appoggiata nelle mie decisioni, incoraggiata a dare il massimo e a non fermarmi al primo ostacolo. Nonostante i mille ripensamenti, posso dire di essere fiera del mio percorso e vi ringrazio, perché se oggi sono qui è anche per merito vostro. Vi voglio bene. Un grazie anche ai miei bimbi pelosi: Leonida, Picasso, Bocelli, Camillo, Adolfo, Ferrero e l'angioletto Otello, che sono stati di aiuto fondamentale durante le sessioni di studio.

Grazie a te, Alberto, per esserci sempre stato non solo come fidanzato, ma anche come amico e fratello. Grazie per avermi fatto da spalla in qualunque momento di debolezza, avermi supportata e sopportata.

Ringrazio la mia coinquilina Marica, con cui ho condiviso parte del mio percorso a Cesena e che è stata un tassello fondamentale per me. Le ore passate a parlare sul pianerottolo, le piadine di Masha, le lasagne, i muffin e le pizze fatte in casa, ma soprattutto la pausa tisana, saranno per sempre dei ricordi indelebili.

Concludo ringraziando i miei più cari amici: Siria, come una sorella per me, al mio fianco dall'asilo nido e punto fisso nella mia vita. Lucrezia, la persona più grintosa che conosca, a cui devo la mia scelta di università e che mi ha sempre dato la forza necessaria per vedere il bicchiere mezzo pieno. Morris, compagno di camminate e amico fidato, su cui so di poter contare.

Grazie per tutto, perché senza di voi questo traguardo non sarebbe così bello.