

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE VETERINARIE**

Ciclo XXIX

Settore Concorsuale di afferenza: 07/H4

Settore Scientifico disciplinare: VET/08

**NUOVE FRONTIERE NELLA MALATTIA
MIXOMATOSA MITRALICA: STUDIO DI NUOVI
PARAMETRI ECOCARDIOGRAFICI E LORO
IMPORTANZA CLINICA E PROGNOSTICA NEL CANE**

Presentata da: **Dott. Romito Giovanni**

Coordinatore Dottorato

Chia.mo Prof. Arcangelo Gentile

Relatore

Prof. Mario Cipone

Correlatore

Dott. Marco Baron Toaldo

Esame finale anno 2017

Indice

Introduzione	3
Bibliografia.....	6
Valutazione ecocardiografica della deformazione e della funzione atriale sinistra tramite ‘<i>speckle tracking echocardiography</i>’ in cani sani e in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica	
Introduzione.....	10
Materiali e metodi	15
Risultati	20
Discussione.....	22
Conclusioni.....	26
Figure e tabelle	27
Bibliografia.....	32
Significato prognostico di specifici parametri ecocardiografici in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica con particolare interesse per gli indici convenzionali e avanzati di funzione atriale sinistra	
Introduzione.....	38
Materiali e metodi	41
Risultati	44
Discussione.....	46
Conclusioni.....	50
Figure e tabelle	51
Bibliografia.....	53
Valutazione ecocardiografica delle alterazioni dell’apparato mitralico e della direzione del rigurgito valvolare e loro valore prognostico in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica	
Introduzione.....	58
Materiali e metodi	63
Risultati	66
Discussione.....	69
Conclusioni.....	74
Figure e tabelle	75
Bibliografia.....	79

Introduzione

La malattia mixomatosa della valvola mitralica (MMVM) rappresenta la patologia cardiovascolare più comune in medicina veterinaria ed è riconosciuta come causa di insufficienza cardiaca congestizia (ICC) nel cane da oltre un secolo.¹ Si tratta di un processo patologico cronico e progressivo, di natura degenerativa, contraddistinto dalla disorganizzazione della struttura macro- e microscopica valvolare.²⁻⁴ La reale prevalenza della MMVM nella specie canina varia a seconda della fascia di età e della razza considerate, fino a quasi il 100% in soggetti di età adulta ed anziana di piccole e medie dimensioni, soprattutto in razze particolarmente predisposte come Cavalier King Charles Spaniel (CKCS) e Bassotto Tedesco.⁴ Nonostante la spiccata diffusione della MMVM canina e l'enorme mole di studi condotti nell'arco di oltre tre decenni, non sono del tutto chiari, ad oggi, i meccanismi eziologici alla base di questa valvulopatia. Attualmente la teoria più accreditata è quella di una patologia su base multifattoriale, espressione di una combinazione di fattori genetici, stimoli meccanici a diretta interazione con la complessa architettura valvolare ed elementi circolanti nel torrente circolatorio capaci di influenzare i processi degenerativi a questo livello.⁴ Allo stesso modo resta tutt'ora da chiarire quali siano i meccanismi alla base della differente espressione clinica della patologia. Difatti, sebbene la MMVM sia in taluni casi caratterizzata da una lenta progressione e da un basso tasso di insorgenza di sintomi clinici e mortalità su base cardiogena,⁵ una quota considerevole di cani sviluppa in tempi relativamente rapidi insufficienza cardiaca, condizione contraddistinta da una scarsa qualità di vita e da un tempo di sopravvivenza limitato (circa 28 mesi nei soggetti affetti da insufficienza cardiaca moderata e solo 9 mesi per quelli in scompenso avanzato).⁶

Di fronte ad un simile scenario, tanto variegato quanto mutevole, risulta fondamentale fornire al clinico strumenti utili nell'identificare i pazienti con un maggior rischio di complicanze, al fine di intraprendere strategie terapeutiche mirate al rallentamento della progressione della malattia e ad una migliore gestione della ICC.⁵⁻⁶ Sulla base di tali premesse, sforzo comune della comunità scientifica è stato quello di indagare un sempre più ampio ventaglio di fattori prognostici, intesi come utili indici di rischio, sia clinici che strumentali, associati ad una maggiore probabilità di progressione della malattia e di decesso dei soggetti affetti.⁴ I fattori per cui, sinora, è nota una

correlazione con una maggiore probabilità di progressione della malattia o di decesso includono l'età ed il sesso maschile,^{7,8} l'intensità del soffio cardiaco,⁹ la presenza di fibrillazione atriale ed il suo inadeguato controllo farmacologico,¹⁰ un incremento progressivo del *vertebral heart score* (VHS, indice radiografico impiegato per oggettivare le dimensioni cardiache),¹¹ l'aumento del rapporto tra diametro dell'atrio sinistro e diametro aortico (AS/Ao)^{6,12-13} e della velocità di picco dell'onda E diastolica transmitralica (MV E vel),^{6,12-13} l'ipertrofia eccentrica ventricolare sinistra,^{12,14} la presenza di ipertensione polmonare di entità moderata-grave,¹⁵ un innalzamento dei livelli sierici dei peptidi natriuretici^{14,16-17} e della troponina cardiaca I,¹⁸ oltre alla concomitante presenza di malattia renale cronica¹⁹ ed anemia.²⁰ Sulla base di quanto appena detto appare chiaro, però, che grossa parte degli studi fin qui pubblicati si sia focalizzata sull'indagine di indici di dilatazione e sovraccarico atrioventricolare sinistro, sia diretti (ad esempio, aumento del rapporto AS/Ao o della MV E vel) che indiretti (ad esempio, aumento in circolo delle concentrazioni dei peptidi natriuretici o sviluppo di fibrillazione atriale).

Va tuttavia considerato che la dilatazione atrioventricolare è solo una conseguenza della patologia valvolare, mentre il bersaglio primario della MMVM è costituito dall'apparato mitralico stesso. A testimonianza di quanto detto e dell'importanza rivestita da tale struttura anatomica va notato che, in medicina umana, l'entità del danno valvolare così come le caratteristiche del jet rigurgitante rappresentano indici ecocardiografici dal preziosissimo valore clinico e prognostico. Tali parametri sono difatti quotidianamente impiegati nell'uomo non solo per identificare i soggetti a maggior rischio di sviluppo di ICC e morte su base cardiogena, ma anche per decidere il migliore approccio terapeutico in corso di malattia mitralica.²¹⁻
²⁵ Va inoltre ricordato come il rimodellamento miocardico cui vanno incontro le camere cardiache sinistre in condizioni inevitabilmente le performance meccaniche. Ciò sottolinea l'importanza di una valutazione ecocardiografica globale, volta non solo alla quantificazione delle dimensioni atrioventricolari ma anche della loro funzionalità. Tale discorso trova piena realizzazione, ad esempio, nel caso del ventricolo sinistro, comunemente indagato nel cane sia da un punto di vista geometrico che funzionale.²⁶⁻²⁷ Diverso è invece l'approccio all'atrio sinistro, ancora oggi valutato in questa specie semplicemente sotto il mero aspetto dimensionale.²⁶⁻²⁷ Contrariamente a quanto accade

nel cane, nell'uomo la valutazione della performance atriale mediante l'uso combinato di ecocardiografia convenzionale e tecniche di più recente acquisizione (ad esempio, *Speckle Tracking Echocardiography* (STE) e *Tissue Doppler Imaging* (TDI)) rappresenta un tassello di cruciale importanza clinica e prognostica.²⁸⁻³³ In particolar modo, è stato dimostrato che gli indici di funzione atriale ottenibili mediante l'impiego della metodica STE risultano, tra tutti, quelli contraddistinti da maggiore accuratezza.³¹⁻³³ Poiché simili dati sono attualmente carenti in letteratura veterinaria e considerata la loro conclamata importanza in medicina umana, l'obiettivo del presente progetto di ricerca, strutturato sotto forma di tre distinti studi di natura prospettica, è stato quello di indagare:

- 1) la funzionalità dell'atrio sinistro in una popolazione di cani sani e cani affetti da MMVM in diverso stadio di progressione attraverso la valutazione di specifici indici ecocardiografici basati sul metodo STE, saggiandone l'applicabilità e la ripetibilità. E' stata inoltre valutata la capacità di tale metodica di fornire informazioni utili riguardo al grado di disfunzione meccanica atriale nei vari stadi della patologia valvolare;
- 2) l'utilità clinica ed il valore prognostico di selezionate variabili ecocardiografiche in cani affetti da MMVM in diverso stadio di progressione con particolare interesse per specifici indici di funzionalità atriale basati sulla tecnica dello STE;
- 3) l'utilità clinica ed il valore prognostico di selezionate variabili ecocardiografiche inerenti il grado di danno valvolare mitralico e le caratteristiche del jet rigurgitante in una popolazione di cani affetti da MMVM in diverso stadio di progressione.

Bibliografia

1. Borgarelli M, Buchanan JW. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:93-101.
2. Pomerance A, Whitney JC. Heart valve changes common to man and dog: a comparative study. *Cardiovasc Res* 1970;4:61-66.
3. Corcoran BM, Black A, Anderson H, et al. Identification of surface morphologic changes in the mitral valve leaflets and chordae tendineae of dogs with myxomatous degeneration. *Am J Vet Res* 2004;65:198-206.
4. Olsen LH, Häggström J, Pedersen HD. Acquired valvular disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Internal Medicine - Diseases of the dog and cat, 7th ed.* St. Louis - Missouri: Saunders Elsevier, 2010;1299-1314.
5. Borgarelli M, Crosara S, Lamb K, et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with preclinical chronic degenerative mitral valve disease attributable to myxomatous degeneration. *J Vet Intern Med* 2012;26:69-75.
6. Borgarelli M, Savarino P, Crosara S, et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *J Vet Intern Med*, 2008;22:120-128.
7. Olsen LH, Fredholm M, Pedersen HD. Epidemiology and inheritance of mitral valve prolapse in Dachshunds. *J Vet Intern Med* 1999;13:448-456.
8. Häggström J, Hansson K, Kvarn C, et al. Chronic valvular disease in the cavalier King Charles spaniel in Sweden. *Vet Rec* 1992;131:549-553.
9. Häggström J, Kvarn C, Hansson K. Heart sounds and murmurs: changes related to severity of chronic valvular disease in the Cavalier King Charles spaniel. *J Vet Intern Med* 1995;9:75-85.
10. Jung SW, Sun W, Griffiths LG, et al. Atrial fibrillation as a prognostic indicator in medium to large-sized dogs with myxomatous mitral valvular degeneration and congestive heart failure. *J Vet Intern Med* 2016;30:51-57.
11. Lord PF, Hansson K, Carnabuci C, et al. Radiographic heart size and its rate of increase as tests for onset of congestive heart failure in Cavalier King

- Charles Spaniels with mitral valve regurgitation. *J Vet Intern Med* 2011;25:1312-1319.
12. Hezzell MJ, Boswood A, Moonarmart W et al. Selected echocardiographic variables change more rapidly in dogs that die from myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:269-279.
 13. Sargent J, Muzzi R, Mukherjee R, et al. Echocardiographic predictors of survival in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2015;17:1-12.
 14. Moonarmart W, Boswood A, Luis Fuentes V, et al. N-terminal pro B-type natriuretic peptide and left ventricular diameter independently predict mortality in dogs with mitral valve disease. *J Small Anim Pract* 2010;51:84-96.
 15. Borgarelli M, Abbott J, Braz-Ruivo L, et al. Prevalence and prognostic importance of pulmonary hypertension in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2015;29:569-574.
 16. Greco DS, Biller B, Van Liew CH. Measurement of plasma atrial natriuretic peptide as an indicator of prognosis in dogs with cardiac disease. *Can Vet J* 2003;44:293-297.
 17. Reynolds CA, Brown DC, Rush JE, et al. Prediction of first onset of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease: the PREDICT cohort study. *J Vet Cardiol* 2012;14:193-202.
 18. Hezzell MJ, Boswood A, Chang YM, et al. The combined prognostic potential of serum high-sensitivity cardiac troponin I and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with degenerative mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2012;26:302-311.
 19. Martinelli E, Locatelli C, Bassis S, et al. Preliminary investigation of cardiovascular-renal disorders in dogs with chronic mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2016;30:1612-1618.
 20. Yu IB, Huang HP. Prevalence and prognosis of anemia in dogs with degenerative mitral valve disease. *Biomed Res Int* 2016;2016:4727054.

21. Hickey AJ, Wilcken DE, Wright JS, et al. Primary (spontaneous) chordal rupture: relation to myxomatous valve disease and mitral valve prolapse. *J Am Coll Cardiol* 1985;5:1341-1346.
22. Ling LH, Enriquez-Sarano M, Seward JB, et al. Early surgery in patients with mitral regurgitation due to flail leaflets: a long-term outcome study. *Circulation* 1997;96:1819-1825.
23. Grigioni F, Enriquez-Sarano M, Ling LH, et al. Sudden death in mitral regurgitation due to flail leaflet. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:2078-2085.
24. Enriquez-Sarano M, Avierinos JF, Messika-Zeitoun D, et al. Quantitative determinants of the outcome of asymptomatic mitral regurgitation. *N Engl J Med* 2005;352:8758-8783.
25. Yoshida K, Yoshikawa J, Yamaura Y, et al. Value of acceleration flows and regurgitant jet direction by Color Doppler flow mapping in the evaluation of mitral valve prolapse. *Circulation* 1990;81:879-885.
26. Boon JA. Evaluation of size, function, and hemodynamics. In: Boon JA, editor. *Veterinary echocardiography*, 2^o ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, 2011,153-255.
27. Chetboul V, Tissier R. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:127-148.
28. Cameli M, Caputo M, Mondillo S, et al. Feasibility and reference values of left atrial longitudinal strain imaging by two-dimensional speckle tracking. *Cardiovasc Ultrasound* 2009;7:6.
29. Cameli M, Lisi M, Mondillo S, et al. Left atrial longitudinal strain by speckle tracking echocardiography correlates well with left ventricular filling pressures in patients with heart failure. *Cardiovasc Ultrasound* 2010;8:14.
30. Cameli M, Lisi M, Giacomini E, et al. Chronic mitral regurgitation: left atrial deformation analysis by twodimensional speckle tracking echocardiography. *Echocardiography* 2011;28:327-334.
31. Roşca M, Lancellotti P, Popescu BA, et al. Left atrial function: pathophysiology, echocardiographic assessment, and clinical applications. *Heart* 2011;97:1982-1989.

32. Cameli M, Lisi M, Righini FM, et al. Novel echocardiographic techniques to assess left atrial size, anatomy and function. *Cardiovasc Ultrasound* 2012;10:4.
33. Vieira MJ, Teixeira R, Gonçalves L, et al. Left atrial mechanics: echocardiographic assessment and clinical implications. *J Am Soc Echocardiogr* 2014;27:463-478.

Valutazione ecocardiografica della deformazione e della funzione atriale sinistra tramite ‘speckle tracking echocardiography’ in cani sani e in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica

Introduzione

Una normale funzione atriale è essenziale per un’appropriata performance non solo della circolazione sistemica, ma anche di quella polmonare.¹ La funzione emodinamica degli atri è complessa ed espletata attraverso l’adempimento di tre distinte fasi denominate *reservoir* (o ‘serbatoio’), *condotto* e *pompa*.²⁻⁴ Più nello specifico, quando le valvole atrioventricolari sono chiuse, durante la sistole ventricolare, gli atri funzionano da reservoir accettando il sangue proveniente dalle vene grazie alle loro pareti sottili e distendibili. Quando le camere atriali si dilatano, il lavoro compiuto per lo stiramento parietale produce energia che verrà impiegata nelle successive fasi del ciclo atriale. La funzione di reservoir termina nel momento in cui le valvole atrioventricolari si aprono a causa dell’incrementata pressione intra-atriale.²⁻⁴ A questo punto prende inizio la prima parte della diastole ventricolare, in cui si assiste al passaggio di sangue dagli atri ai ventricoli indotto dal gradiente pressorio creatosi tra le due camere. In questo frangente l’energia conservata precedentemente nelle pareti atriali è utilizzata per favorire il deflusso di sangue. Tale fase ha termine quando l’energia della parete atriale si esaurisce ed il divario pressorio atrioventricolare tende a ridursi.²⁻⁴ Segue quindi un periodo di diastasi durante il quale il sangue passa direttamente dalle vene ai ventricoli attraverso le valvole atrioventricolari ancora aperte. Il termine diastasi è perciò impiegato proprio per indicare l’equilibrio che sussiste tra ingresso e uscita di sangue attraverso gli atri, oltre che per sottolineare che in questo momento il volume intra-atriale non subisce variazioni.²⁻⁴ La diastasi è dunque una fase in cui gli atri lavorano principalmente come condotto in grado di convogliare a livello ventricolare circa il 70-75% del volume ematico contenuto al loro interno.⁵ Segue infine la fase tardiva della diastole ventricolare, in cui gli atri si contraggono come una vera e

propria pompa meccanica. Viene in tal modo eiettata attivamente la quota residua di sangue ancora presente in sede atriale, assicurando così un completo riempimento delle camere ventricolari ed una migliore gittata sistolica.^{2-4,6-8} In condizioni fisiologiche il contributo atriale alla fase di reservoir, condotto e pompa è rispettivamente del 40%, 35% e 25%.⁵ Ciononostante, in caso di necessità tali percentuali possono modificarsi drasticamente per contribuire al mantenimento dell'omeostasi cardiocircolatoria. Ad esempio, in caso di disfunzione diastolica ventricolare lieve si assiste ad un calo della fase di condotto e ad un incremento di quelle di reservoir e di pompa. Col progredire della disfunzione diastolica si assiste, invece, ad un aumento della fase di condotto mentre quelle di reservoir e pompa si riducono significativamente.⁹

Considerata la complessa e dinamica fisiologia atriale, nonché l'imprescindibile ruolo emodinamico svolto da tali camere, risulta fondamentale investigarne accuratamente non solo l'anatomia ma anche la funzionalità. Nonostante in medicina umana tale obiettivo possa essere raggiunto mediante l'uso combinato di metodiche d'ultima generazione, come ad esempio la tomografia assiale computerizzata (CT) e la risonanza magnetica nucleare (RM), l'ecocardiografia transtoracica continua a rappresentare il metodo più accessibile ed utilizzato nella pratica clinica. Un simile discorso vale anche in medicina veterinaria, dove gli alti costi, la scarsa diffusione delle specifiche attrezzature e la necessità dell'anestesia generale limitano fortemente l'impiego delle metodiche di imaging avanzato. Per molto tempo i parametri ecocardiografici impiegati per indagare la funzionalità atriale sinistra hanno incluso la semplice valutazione delle dimensioni atriali (diametri e volumi fasici) mediante ecocardiografia mono- e bidimensionale e lo studio del profilo diastolico transmitralico e di quello delle vene polmonari mediante Doppler pulsato.¹ Tuttavia è stato ampiamente dimostrato che l'accuratezza di ciascuna di queste metodiche risulta fortemente inficiata da diverse limitazioni, in primis la stretta dipendenza dalle condizioni di pre- e postcarico.¹ Ciò ha reso necessario lo sviluppo di tecniche ecocardiografiche più avanzate come ad esempio il TDI.¹⁰⁻¹² Sfortunatamente però anche tale approccio non è scevro da difetti, tra cui la riproducibilità subottimale e la forte angolo-dipendenza.^{1,10-11}

Gran parte delle limitazioni sopra citate sono state recentemente superate grazie

all'avvento dello STE, moderna metodica ultrasonografica volta alla valutazione obiettiva e quantitativa della funzionalità miocardica, sia complessiva che regionale, indipendentemente dall'angolo d'insonazione e dai movimenti traslatori del cuore.^{1,10-11} Tale tecnica si basa sull'analisi dello spostamento spaziale (denominato *tracking*) di macchie (note come *speckles*), generate dall'interazione tra il fascio ultrasonoro con le fibre miocardiche, che si osservano nell'immagine bidimensionale convenzionale. I singoli speckles sono raggruppati in unità funzionali (*kernels*) che, vista la particolare disposizione degli speckles stessi al loro interno, sono a loro volta singolarmente e univocamente identificabili; ciò consente ai kernels di comportarsi come impronte digitali identificabili dal software in ogni momento del ciclo cardiaco. Seguendo lo spostamento degli speckles durante il ciclo cardiaco, lo STE permette un'elaborazione semiautomatica della deformazione miocardica secondo tre dimensioni spaziali: radiale, longitudinale e circonferenziale.¹³ Si possono così valutare nuovi indici di performance miocardica senza la necessità di impiegare il segnale Doppler. Tra questi indici vi sono ad esempio lo *strain*, inteso come indice di deformazione di un oggetto (nel contesto ecocardiografico, di un segmento miocardico che può accorciarsi o allungarsi nel tempo) e lo *strain rate*, indice della velocità con cui avviene la deformazione del segmento miocardico studiato.¹³ Sia lo strain che lo strain rate possono essere studiati mediante curve elaborate da software dedicati a partire dall'immagine ecocardiografica (Figura 1). Da queste possono essere successivamente ricavati specifici indici di funzionalità atriale, come il picco di strain atriale longitudinale (*peak atrial longitudinal strain*, PALS), misurato alla fine della fase di 'serbatoio', ed il picco di strain della contrazione atriale (*peak atrial contraction strain*, PACS), misurato appena prima dell'inizio della contrazione atriale (Figura 2).¹⁴ A partire da questi due parametri è infine possibile calcolare l'indice strain di contrazione atriale (*contraction strain index*, CSI) (Figura 3), ovvero il contributo della contrazione atriale al riempimento del ventricolo sinistro.¹⁴

Diversi studi condotti in medicina umana hanno evidenziato i vantaggi offerti dall'analisi della funzionalità atriale mediante gli indici STE, dimostrandone il ruolo chiave in termini diagnostici, prognostici e terapeutici in corso di numerose patologie cardiovascolari.^{1,14-16} Ad esempio, in pazienti affetti da ipertensione sistemica con volume e frazione di eiezione dell'atrio sinistro conservati, l'uso dello STE è stato in

grado di svelare una riduzione dello strain atriale. Tale dato supporta l'idea che tale metodica sia effettivamente in grado di identificare precocemente alterazioni funzionali incipienti ancor prima della comparsa di quelle strutturali apprezzabili solo in stadi più avanzati con le metodiche tradizionali.¹⁴ A conferma di ciò, è stato anche dimostrato che l'analisi dello strain atriale mediante STE è in grado di diagnosticare quadri d'ipertensione polmonare più precocemente rispetto alle tecniche convenzionali.¹⁴ L'introduzione dello STE ha inoltre permesso di ampliare la comprensione della fisiopatologia atriale in corso di disturbi del ritmo di origine sopraventricolare, come ad esempio la fibrillazione atriale, garantendo così una loro migliore gestione terapeutica sia a breve termine, nei giorni immediatamente successivi a terapie quali cardioversione elettrica ed ablazione del nodo del seno, sia a lungo termine, nel corso dei mesi successivi.¹⁴ Infine, tale approccio è risultato di cruciale importanza anche per una maggiore conoscenza delle ripercussioni atriali in corso valvulopatia mitralica. Difatti, la valutazione dell'atrio sinistro basata su STE ha permesso di svelare un aumento del PALS globale nei soggetti con rigurgito lieve ed una graduale riduzione di tale parametro passando dallo stadio moderato al grave.¹⁵ In modo simile, l'analisi dello strain durante la contrazione atriale (PACS) ha mostrato un pattern superiore al normale nel gruppo di pazienti con rigurgito lieve e moderato, mentre è stato notato un suo significativo calo nei pazienti con rigurgito grave.¹⁵ Tale comportamento sembrerebbe suggerire un quadro di compensazione iniziale in risposta al rigurgito mitralico garantito dall'elevata compliance atriale, seguito poi da un drastico declino funzionale presumibilmente a causa delle anomalie strutturali frequentemente osservabili in corso d'insufficienza mitralica cronica, come la diffusa fibrosi sostitutiva.¹⁵ E' assolutamente essenziale sottolineare l'importanza di tali risultati, i quali non vanno interpretati come meri dati di laboratorio dal valore puramente teorico, quanto piuttosto come lo specchio di alterazioni biomeccaniche dal profondo significato clinico. Lo studio di Yang *et coll.* ha difatti dimostrato una stretta associazione tra il calo dei suddetti indici ecocardiografici ed il survival time in pazienti affetti da rigurgito mitralico di severa entità.¹⁷

Al contrario della medicina umana, i dati inerenti lo STE ad oggi disponibili in ambito medico veterinario sono perlopiù incentrati sullo studio della performance ventricolare.¹⁸⁻³⁰ Pochissimi risultano, invece, gli studi volti a valutare l'applicazione di

tale metodica per la valutazione della funzionalità atriale canina.³¹⁻³⁴ Va anche considerato che tali ricerche preliminari sono contraddistinte da una serie di significative limitazioni, tra cui il modesto numero di soggetti considerati,³¹⁻³² il fatto che abbiano compreso prevalentemente cani sani,^{31-32,34} oltre all'esiguo numero di variabili STE indagate.³¹⁻³³ Tali carenze riducono fortemente l'applicabilità di tali dati nella pratica clinica veterinaria, rendendo necessari studi contraddistinti da una maggiore robustezza scientifica.

Considerate tali premesse, lo scopo del presente progetto di ricerca è stato quello di valutare in modo prospettico l'utilità dello STE e di diversi indici da esso derivati in un'ampia popolazione di cani sia sani che affetti da MMVM in diversi stadi di progressione, al fine di saggiare non solo l'applicabilità e la ripetibilità della metodica, ma anche di constatare oggettivamente il ruolo dei parametri selezionati nello studio delle fisiopatologia dell'atrio sinistro canino in corso di malattia mitralica.

Materiali e Metodi

Selezione della popolazione di studio

Al fine del nostro progetto sono stati arruolati tutti i cani affetti da MMVM riferiti al Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie (DIMEVET) dell'Ateneo di Bologna, nell'arco di tempo compreso tra Aprile 2010 e Dicembre 2014. Per ogni soggetto sono stati raccolti dati inerenti segnalamento, anamnesi completa di storia clinica e terapia cardiologica in atto, oltre ai parametri clinici di base. E' stata inoltre effettuata una valutazione cardiologica completa come di seguito descritto. Al gruppo di studio è stato affiancato un gruppo di controllo di cani sani con caratteristiche il più possibile omogenee per razza, sesso ed età rispetto a quello oggetto di studio. I cani arruolati sono stati quindi suddivisi in 4 gruppi, sulla base della classificazione proposta dall'American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) nel 2009³⁵ in parte modificata dal nostro gruppo di ricerca:

- Gruppo H (*healthy*): cani sani;
- Gruppo B1: cani affetti da MMVM in stadio B1, ovvero contraddistinti da patologia valvolare lieve ancora non esitata in rimodellamento miocardico;
- Gruppo B2: cani affetti da MMVM in stadio B2, ovvero soggetti in cui la valvulopatia è esitata in rimodellamento miocardico ma che non manifestano i sintomi clinici dell'ICC;
- Gruppo S (*symptomatic*): cani affetti da MMVM in stadio C e D, ovvero soggetti in cui la valvulopatia si è associata almeno una volta a segni clinici di ICC.

Tutti i soggetti indagati hanno dovuto soddisfare i seguenti criteri d'inclusione: 1) peso corporeo uguale o inferiore ai 20 kg; 2) età uguale o superiore ai 2 anni. Inoltre i soggetti valutati potevano essere inclusi nel gruppo di studio solo in caso di: 3) presenza all'auscultazione cardiaca del tipico soffio sistolico apicale sinistro; 4) evidenza ecocardiografica bidimensionale delle tipiche lesioni valvolari a carico dell'apparato mitralico; 5) evidenza mediante color-Doppler del tipico rigurgito mitralico; 6) presenza di un normale ritmo sinusale nel corso della valutazione ecocardiografica; 7) assenza di altre cardiopatie concomitanti, sia congenite che acquisite; 8) assenza di patologie sistemiche a diretta ripercussione sull'apparato cardiovascolare. I cani appartenenti al

gruppo di controllo sono stati reclutati solo se contraddistinti da un'anamnesi recente silente e solo dopo essere stati giudicati esenti da malattie cardiache e sistemiche in seguito ad esame clinico ed ecocardiografico completo. Ogni cane aderente al protocollo di studio è stato inoltre sottoposto ad un esame elettrocardiografico di superficie a 12 derivate (6 derivate standard e 6 derivate toraciche precordiali)³⁶ mediante l'utilizzo del dispositivo Cube ECG (Cardioline S.p.A. Cavareno (TN), Italy) ed al rilevamento della pressione arteriosa sistemica con misuratore digitale petMAP graphic (Ramsey Medical, Inc., Tampa (FL), USA) in accordo alle linee guida proposte dall'ACVIM nel 2007.³⁷ Per classificare i soggetti del gruppo S ci si è basati inizialmente sulla presenza di segni clinici indicativi di ICC, come aumento della frequenza respiratoria a riposo, dispnea, tosse o intolleranza all'esercizio. L'ipotesi diagnostica è stata quindi confermata mediante esame radiografico del torace nelle due proiezioni ortogonali standard, latero-laterale destra e dorso-ventrale o ventro-dorsale.³⁵

Studio ecocardiografico convenzionale ed analisi dei dati

Le scansioni ecocardiografiche utili al conseguimento del nostro lavoro sono state realizzate da 3 operatori mediante gli ecografi Philips iU22 e Philips iE33 (Philips Medical Systems, Monza, Italy) equipaggiati con sonda settoriale phased array (S5-1 MHz) e sotto monitoraggio ECG continuo. L'esame è stato eseguito in animali non sedati e contenuti manualmente su un apposito lettino rialzato e forato al centro, nei decubiti laterali destro e sinistro per usufruire delle finestre acustiche parasternali rispettivamente destre e sinistre. Per una migliore visualizzazione, in base alle necessità, è stata eseguita una piccola area di tricotomia nell'area di proiezione cardiaca intorno alla zona di percezione dell'itto, in seguito pulita con alcool etilico al 90%. Tra la sonda e la cute è stato poi interposto del gel ultrasonografico (Aquasonic 100). L'acquisizione delle immagini e dei videoclip è stata realizzata su una serie di 3 cicli cardiaci consecutivi nelle modalità B-mode, M-mode e Doppler.³⁸ Per ogni cane sono stati misurati gli spessori parietali ed i diametri del ventricolo sinistro, sia telesistolici che telediastolici, mediante modalità M-mode a partire dalla scansione parasternale destra in asse corto e in corrispondenza dei muscoli papillari.³⁸ E' stato così possibile calcolare la frazione di accorciamento. La dimensione dell'atrio sinistro è stata valutata sulla base

del rapporto AS/Ao ottenuto a partire dalla scansione parasternale destra in asse corto a livello di base cardiaca, secondo la tecnica validata da Rishniw ed Erb.³⁹ In accordo alla letteratura è stato considerato normale un rapporto inferiore a 1.6, mentre un valore uguale o superiore a tale limite è stato considerato indicativo di dilatazione atriale sinistra.³⁹ Dalla proiezione apicale sinistra quattro camere è stato valutato il profilo del flusso diastolico transmitralico mediante Doppler pulsato, al fine di misurare la MV E vel, oltre la velocità di picco dell'onda A (MV A vel), il rapporto E/A ed il tempo di decelerazione dell'onda E.

Criteri di esclusione

Sono stati esclusi dallo studio tutti i soggetti non conformi ai suddetti criteri d'inclusione inerenti peso ed età, oltre ai cani in cui fosse stata diagnosticata una malattia sistemica sottostante che potesse avere ripercussioni significative sull'apparato cardiocircolatorio (come ad esempio, insufficienza renale cronica, morbo di Cushing, morbo di Addison, ipotiroidismo e sepsi).⁴⁰⁻⁴⁴ Sono stati anche esclusi gli animali con disturbi del ritmo cardiaco manifesti in maniera continua nel corso dell'esame ecocardiografico e/o affetti da cardiopatie congenite ed acquisite concomitanti alla MMVM.

Valutazione STE

L'esame STE è stato condotto da un unico operatore esperto utilizzando videoclip di ottima qualità acquisiti per ogni soggetto attraverso la scansione parasternale sinistra apicale quattro camere, al fine di ottenere un'appropriata visualizzazione dell'apparato valvolare mitralico e della parete mediale (setto interatriale ed interventricolare) e laterale delle camere cardiache sinistre. Il frame rate è stato impostato tra i 70 e i 100 frames/s, registrando poi una sequenza minima di tre cicli cardiaci consecutivi.¹⁴ In seguito i videoclip sono stati analizzati mediante un software dedicato (Q-Lab, Philips Medical Systems, Monza, Italy) mediante l'ausilio del quale l'operatore ha potuto tracciare una regione d'interesse (*region of interest*, ROI) sull'intera parete atriale. La ROI è stata quindi suddivisa in sette segmenti da parte

del programma (Figura 1), capace di rilevare automaticamente lo spostamento di ciascuno di essi. Quando necessario l'operatore ha potuto modificare manualmente il tracking di ogni segmento al fine di limitare al minimo valori artefattuali dovuti ad esempio all'interposizione dei polmoni o all'assenza di un'immagine nitida a livello della fossa ovalis o dell'inlet delle vene polmonari. Per lo stesso motivo, laddove necessario, i segmenti comunque eccessivamente artefattuali sono stati esclusi dall'analisi ed è stato quindi registrato il numero totale di segmenti definitivamente analizzati per ciascun paziente. Il software ha successivamente generato la curva di strain longitudinale per ogni segmento e calcolato la curva del valore medio di tutti i segmenti, ogniuna di esse contraddistinta nel corso di un intero ciclo cardiaco dal valore di strain sull'asse delle y e dal tempo, espresso in secondi, sull'asse delle x.¹⁴ Partendo dalle curve di deformazione miocardica sono stati calcolati diversi parametri di funzionalità atriale in accordo a quanto mostrato da Cameli *et coll.* nel 2012, tra cui il PALS (misurato al picco massimo positivo di strain), il PACS (in corrispondenza del picco dell'onda P sull'ECG) ed il CSI (calcolato usando la formula: $CSI = 100 \times (PALS/PACS)$)¹⁴ (Figura 2 e 3). Inoltre, tracciando il bordo endocardico dell'atrio sinistro a partire dalla medesima scansione ecocardiografica, il software ha permesso di generare le aree atriali, sia massima (AASmax) che minima (AASmin), espresse in cm² e successivamente indicizzate sull'area aortica (AASmax/AoArea, AASmin/AoArea). A partire dalla AASmax e dalla AASmin è stato infine possibile calcolare la frazione di accorciamento atriale (FAC) mediante la formula: $FAC = 100 \times (AASmax - AASmin)/AASmax$ ¹⁴ (Figura 4).

Analisi statistica

Le statistiche descrittive sono state impiegate per le variabili età, sesso e peso corporeo. L'effetto dei gruppi (H, B1, B2, S) sul peso corporeo, l'età ed il sesso è stato studiato con un'analisi della varianza ad una via ed un test del Chi quadro. La distribuzione normale delle variabili ecocardiografiche, Doppler e STE-derivate è stata valutata con un test Shapiro-Wilks. Le variabili non normalmente distribuite sono state log-trasformate. Un test di co-varianza (ANCOVA) è stato impiegato per testare gli effetti delle co-variate, quali gruppo dei cani e sesso, e variabili continue, cioè frequenza

cardiaca, peso corporeo ed età, sulle variabili ecocardiografiche Doppler e STE-derivate. L'ipotesi di modello lineare è stata valutata visivamente osservando i plot residui. I dati sono riportati come Least Square mean \pm Standard Error. Se necessario, è stato applicato un post-hoc test con correzione di Bonferroni. La correlazione tra le variabili STE-derivate e le misure del cuore sinistro è stata testata con un indice di correlazione di Pearson (r) e considerata significativa per valori di $P < .001$ and $r > .33$. L'analisi statistica è stata condotta usando software dedicati (SAS version 9.3, SAS Institute Inc., Cary (NC), USA; MedCalc version 12.6.1.0, MedCalc Software, Ostend, Belgium).

Studio di variabilità

La variabilità intraoperatore è stata calcolata tramite il coefficiente di variabilità (CV), mediante misurazioni delle sei variabili STE (PALS, PACS, CSI, AASmax, AASmin, FAC) effettuate da parte dello stesso operatore in due momenti successivi a partire da 6 cani coinvolti nello studio e selezionati in modo casuale. La variabilità interoperatore è stata calcolata in maniera simile, confrontando però le misurazioni ottenute da parte di due diversi operatori. Il CV è stato calcolato usando la formula: (differenza media tra le misurazioni / media delle misurazioni) / 100.¹² La variabilità è stata considerata arbitrariamente come molto bassa (CV < 5%), bassa (CV = 5-15%), moderata (CV = 16-25%) o alta (CV > 25%).

Risultati

Caratteristiche della popolazione oggetto di studio e dei parametri ecocardiografici convenzionali

Considerati i nostri criteri di inclusione, sono stati arruolati un totale 150 cani, di cui 127 affetti da MMVM a vario stadio di progressione e 23 sani. La composizione del campione esaminato è risultata in generale omogenea in termini di peso medio, ma non per età considerando che i soggetti appartenenti al gruppo H apparivano più giovani rispetto ai cani inclusi negli altri gruppi, così come i cani del gruppo B1 erano più giovani di quelli del gruppo B2 e S ($P < .001$). I cani maschi sono risultati sovrarappresentati nei gruppi B1, B2 e S, al contrario le femmine nel gruppo H; ciononostante non sono state notate differenze statisticamente significative in termini di sesso. Riguardo le razze arruolate, i cani meticci hanno rappresentato la popolazione più numerosa ($n = 68$; 45%), seguiti da CKCS ($n = 10$; 7%), Yorkshire terriers ($n = 9$; 6%), Barboncini ($n = 7$; 5%), Maltesi ($n = 6$; 4%), Shih-tzus ($n = 6$; 4%) e Cocker spaniels ($n = 3$; 2%). Le caratteristiche descrittive della popolazione oggetto di studio sono illustrate nella Tabella 1. Tutte le variabili ecocardiografiche sono risultate distribuite normalmente, ad eccezione di AASmax/AoArea e AASmin/AoArea. La frequenza cardiaca è risultata maggiore nei cani in classe S in confronto agli altri gruppi ($P < .001$). E' stato inoltre notato un progressivo incremento della MV E vel e della MV A vel, così come del loro rapporto, passando progressivamente dai soggetti in classe H fino a quelli in classe S ($P < .001$) (Tabella 2).

Aree ed indici STE dell'atrio sinistro e loro correlazioni con le variabili ecocardiografiche convenzionali

E' stato possibile ottenere un buon tracking atriale per ogni cane oggetto di studio. Difatti, dei 1.050 segmenti atriali analizzati (7 per ogni cane), solo 61 (5.8%) sono stati eliminati dall'analisi a causa di importanti artefatti, mentre i rimanenti 989 segmenti (94.2%) sono stati impiegati per l'analisi definitiva. In modo simile a quanto

sopra mostrato per le variabili ecocardiografiche convenzionali, anche le aree atriali hanno mostrato un progressivo incremento all'aumentare della classe di gravità di patologia valvolare (Tabella 2). Più nello specifico, sia la AASmax/AoArea che la AASmin/AoArea erano maggiori nei cani appartenenti al gruppo B2 rispetto a quelli dei gruppo A e B1, così come i cani inclusi nel gruppo S mostravano valori superiori rispetto a tutti gli altri gruppi ($P < .001$). La FAC è risultata minore nei cani del gruppo B2 in confronto a quelli del gruppo A, mentre i cani del gruppo S avevano valori minori in rapporto a qualsiasi altro gruppo ($P < .001$). Per quanto concerne i valori di strain, i cani del gruppo S hanno mostrato valori minori di PALS rispetto a tutti gli altri gruppi ($P < .001$). Valori minori di PALS sono stati registrati nel gruppo B2 rispetto ai gruppi A e B1, così come pure nel gruppo B1 rispetto al gruppo A. Discorso simile vale per il PACS, parametro minore nei cani affetti da MMVM associata a rimodellamento miocardico (B2 ed S) rispetto ai gruppi A e B1 ($P < .001$). Il CSI è risultato significativamente minore nel gruppo S in confronto al gruppo B1 ($P < .001$) e nei cani appartenenti alla categoria B2 rispetto a quelli del gruppo controllo (Tabella 2). I risultati del modello ANCOVA non hanno mostrato un effetto significativo di età e frequenza cardiaca sulle variabili oggetto di studio, mentre il peso corporeo ha mostrato un effetto negativo su FAC, PALS, e PACS, un effetto positivo su AASmax/AoArea e AASmin/AoArea, e nessuno effetto sul CSI. L'analisi di correlazione ha dimostrato diverse correlazioni, sia positive che negative, tra le variabili STE e quelle convenzionali. Nello specifico sono state identificate 31 correlazioni statisticamente significative ($P < .001$) (Tabella 3).

Studio di variabilità

La variabilità inter- ed intraoperatore è risultata clinicamente accettabile per le sei variabili STE indagate, indicando un'ottima ripetibilità dello studio di deformazione dell'atrio sinistro nel nostro laboratorio di ecocardiografia. Più nello specifico, la variabilità interoperatore è risultata bassa, con un CV sempre $< 16\%$, mentre la variabilità intraoperatore è risultata da bassa a molto bassa, con un CV sempre $< 13\%$ per PALS, PACS e CSI, e $< 7\%$ per AASmax, AASmin e FAC.

Discussione

In questo studio abbiamo valutato, per la prima volta in medicina veterinaria, l'applicazione di diversi indici di funzionalità atriale sinistra basati sul metodo STE sia in cani sani che in cani affetti da MMVM in vario stadio di progressione. Sulla base dei risultati conseguiti è stato innanzitutto possibile dimostrare la buona riproducibilità di tale metodica nella valutazione dell'atrio sinistro canino. A supportare tale considerazione contribuisce l'elevato livello di ripetibilità (variabilità inter- ed intraoperatore < 16%) e l'elevata percentuale di segmenti correttamente analizzabili dal software a partire dall'immagine ecocardiografica bidimensionale (94.2%). Tali dati concordano pienamente con quanto riportato in medicina umana, dove un adeguato tracking è ottenibile in più del 95% dei casi e dove la variabilità inter- ed intraoperatore non supera solitamente il 6%.⁴⁵⁻⁴⁶

E' stato inoltre possibile dimostrare come l'analisi basata sul metodo STE garantisca un'approfondita comprensione delle fisiopatologia atriale canina, permettendo così d'espandere le nostre conoscenze circa le complesse dinamiche di questa camera cardiaca. In nostri dati evidenziano difatti un decremento lineare degli indici STE a partire dai cani del gruppo di controllo, popolazione in cui sono stati notati i valori maggiori, fino ad arrivare ai pazienti affetti da MMVM in stadio avanzato, in cui si sono registrati i picchi più bassi. Abbiamo inoltre riscontrato una correlazione negativa tra i suddetti parametri di funzionalità e gli indici di rimodellamento miocardico (ad esempio, rapporto AS/Ao e AASmax/AoArea). Questi dati ricalcano da vicino quanto pubblicato in letteratura umana,^{14-15,17,47-50} testimoniando una progressiva disfunzione atriale di pari passo con il peggioramento della valvulopatia e la progressiva dilatazione atriale. Per meglio comprendere la stretta interazione tra rimodellamento strutturale e performance funzionale va considerato l'effetto emodinamico indotto dal rigurgito mitralico in corso di MMVM. Il rigurgito induce infatti un crescente sovraccarico volumetrico atriale, il quale a sua volta innesca un processo di rimodellamento sia adattativo che maladattativo contraddistinto da alterazione nella composizione della matrice extracellulare, eccessiva proliferazione di fibroblasti, ipertrofia miocardica, necrosi ed apoptosi.⁵¹⁻⁵² Sarebbero proprio tali modificazioni ultrastrutturali ad inficiare le proprietà meccaniche delle pareti atriali, inducendo dunque un calo dei corrispettivi parametri funzionali.^{15,53-54}

Un altro dato estremamente interessante è quello inerente il PALS, indice di deformazione atriale durante la fase di reservoir, espressione della sua capacità di deformarsi in seguito al riempimento diastolico e, dunque, della sua integrità funzionale. In nostri dati hanno dimostrato valori minori di PALS nei cani affetti da MMVM in stadio B1 rispetto ai cani sani, nonostante gran parte dei restanti indici STE così come pure i parametri dimensionali (ad esempio, rapporto AS/Ao ed aree atriali) non differiscano in modo statisticamente significativo tra questi due gruppi. Tale dato suggerirebbe che, anche se non ancora presente un'attivazione dei meccanismi di compenso tipica degli stadi più avanzati della patologia (sovraccarico volumetrico e dilatazione atriale), la deformazione di questa camera cardiaca può risultare già alterata, a supporto dell'ipotesi che la sola presenza del rigurgito valvolare sia comunque in grado di alterare le proprietà elastiche della muscolatura atriale.

Altro dato certamente degno di menzione è quello inerente il CSI, parametro di funzione sistolica atriale, di cui si è inizialmente registrato un incremento al passaggio dal gruppo H al gruppo B1, per poi notarne un progressivo calo all'avanzare della classe ACVIM. Questo andamento non lineare contraddistinto ad un transitorio profilo 'supernormale' è in perfetto accordo con quanto descritto nell'uomo. Uno studio condotto su pazienti affetti da malattia mitralica compensata e suddivisi sulla base della gravità del rigurgito valvolare ha infatti dimostrato un transitorio aumento del CSI nei soggetti con rigurgito lieve e con dimensioni atriali sinistre contenute, seguito da una sua progressiva riduzione nelle fasi più avanzate, ovvero nei soggetti con rigurgito moderato/grave e maggiori dimensioni camerale.¹⁴ Un comportamento analogo era d'altronde stato precedentemente riportato anche da Borg *et coll.* nel 2009 mediante analisi della funzionalità atriale sinistra tramite TDI sempre in soggetti affetti da valvulopatia cronica.⁵⁵ Si ipotizza che il principio fisiologico alla base di tale fenomeno sia spiegabile attraverso la legge di Frank-Starling, in cui è descritta la relazione tra stiramento e tensione delle pareti del cuore.⁶⁻⁸ Il rigurgito mitralico difatti aumenta la tensione diastolica atriale e la lunghezza delle fibre a questo livello, da cui risulta una più forte e prolungata contrazione delle pareti atriali, che a sua volta si traduce in un aumento del CSI.¹⁴ Successivamente, nelle fasi più avanzate, la graduale scomparsa di tale compensazione (espressa come progressiva riduzione dei parametri ecocardiografici di funzionalità atriale) sembrerebbe andar di pari passo con il progressivo aumento

dell'entità del rigurgito mitralico e del grado di dilatazione atriale che, come già discusso precedentemente, si accompagnano a significative alterazioni istologiche a diretta ripercussione sulla funzionalità atriale.¹⁴

Per concludere la trattazione degli indici STE, è infine interessante notare come i valori di PALS, PACS e CSI da noi ottenuti nei soggetti appartenenti al gruppo H appaiano maggiori rispetto a quanto riportato nell'unico studio che ha precedentemente valutato tali variabili in cani sani.³⁴ Questa differenza potrebbe essere il risultato dei diversi apparecchi ecocardiografici e software impiegati, oltre che delle differenze demografiche della popolazione oggetto di studio. I cani inclusi nell'indagine di Caivano *et coll.* comprendevano un più ampio ventaglio di razze, categorie d'età e peso corporeo,³⁴ mentre quelli valutati nel presente studio risultano nel complesso più anziani e di taglia minore. Il nostro gruppo di ricerca ha difatti volontariamente cercato di selezionare una popolazione quanto più rappresentativa possibile di quella tipicamente riportata in letteratura in corso di MMVM canina.^{35,56-57} Nello specifico, l'insieme dei soggetti con segni clinici riconducibili a malattia mitralica è risultato essere prevalentemente composto da soggetti di sesso maschile (60%), di piccola taglia (peso corporeo ≤ 20 kg), meticci (48%) o appartenenti a razze pure notoriamente predisposte alla patologia, come ad esempio il CKCS (6.3%). È stato osservato anche un crescente aumento dell'età media nei 3 gruppi d'insufficienza cardiaca (circa 9 anni in classe B1, circa 11 in classe B2, circa 13 in classe S), a comprova del notorio comportamento cronico della malattia.^{35,56-57} Sempre in linea con quanto noto in medicina veterinaria^{35,56-57} e come già accennato precedentemente, abbiamo anche assistito ad un progressivo incremento dei valori ecocardiografici convenzionali indicativi di sovraccarico volumetrico e rimodellamento cardiaco (ad esempio, il rapporto AS/Ao e la MV E vel) all'aumentare della classe ACVIM.

Per quanto concerne le potenziali limitazioni di questo progetto di ricerca, va considerata in primis la complessità tecnica inerente la corretta acquisizione ed elaborazione dei parametri STE, soprattutto nei cani affetti da MMVM in stadio avanzato e con atri particolarmente dilatati. Infatti in questi casi l'eccessiva distensione delle vene polmonari e la tipica dislocazione del setto interatriale potrebbero complicare il processo di tracking, inficiando in tal modo l'accuratezza degli indici strain da esso ottenuti. Tuttavia, è stato possibile ovviare a tale problematica eliminando dall'analisi i

pochi segmenti particolarmente artefattuali (nel nostro studio solo il 5.8%). Inoltre, abbiamo documentato una buona riproducibilità inter- ed intraoperatore non solo nei cani sani o con lieve dilatazione atriale, ma anche in quelli appartenenti al gruppo S, soggetti contraddistinti dalle suddette peculiarità anatomiche secondarie all'abnorme rimodellamento atriale. Una seconda potenziale limitazione è rappresentata dalla differenza d'età tra i cani sani e quelli affetti da MMVM. Tuttavia, considerata la natura acquisita e progressiva della patologia,^{35,56-57} risulta estremamente difficile creare un gruppo di controllo privo di rigurgito mitralico e con caratteristiche assolutamente identiche a quelle del gruppo studio. Va inoltre sottolineato che il modello ANCOVA non ha mostrato alcun effetto significativo dell'età sugli indici STE. Altra limitazione è data dalla possibile influenza dei farmaci cardiaci impiegati in alcuni dei cani oggetto di studio sulla funzionalità atriale. Ciononostante, va evidenziato che solo meno di un terzo dei cani affetti da MMVM riceveva farmaci cardioattivi al momento dell'inclusione, farmaci d'altronde considerati salvavita negli stadi più avanzati della patologia³⁵ e, dunque, non interrompibili per ovvie ragioni etiche. Infine, nel presente progetto di ricerca i casi di disfunzione atriale non sono stati comprovati mediante tecniche considerate gold standard nell'uomo (ad esempio, CT e RM). Data però la necessità dell'anestesia generale per l'esecuzione di tali metodiche ed il conseguente rischio (particolarmente elevato soprattutto nei cani appartenenti al gruppo S), tali indagini non sono state volontariamente condotte per chiare motivazioni di ordine etico.

Conclusioni

In conclusione, nel presente progetto di ricerca è stato dimostrato che la valutazione ecocardiografica della deformazione e della funzione atriale sinistra tramite la tecnica dello STE è applicabile e ben riproducibile nel cane e fornisce parametri accurati ed innovativi per un approfondito studio di questa camera cardiaca sia in soggetti sani che in pazienti affetti da MMVM. Nello specifico, è stato dimostrato un chiaro declino della funzionalità atriale sinistra di pari passo con in progredire della classe di gravità della patologia e con il grado di dilatazione atriale.

Figure e tabelle

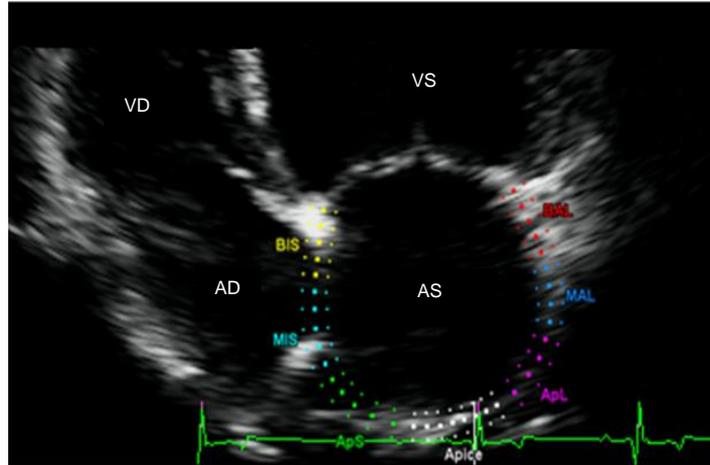


Figura 1. Esempio di una ROI (*region of interest*) disegnata a livello dell'intera parete atriale sinistra in un cane coinvolto nello studio a partire dalla scansione apicale sinistra quattro camere. Si notino i sette segmenti in cui automaticamente la parete è suddivisa dal software: BAL: parete laterale atriale, componente basale; MAL: parete laterale atriale, componente mediale; ApAL: parete laterale atriale, componente apicale; Apice: apice cardiaco; ApS: setto interatriale, componente apicale; MIS: setto interatriale, componente mediale; BIS: setto interatriale, componente basale. AD: atrio destro; AS: atrio sinistro; VD: ventricolo destro; VS: ventricolo sinistro.

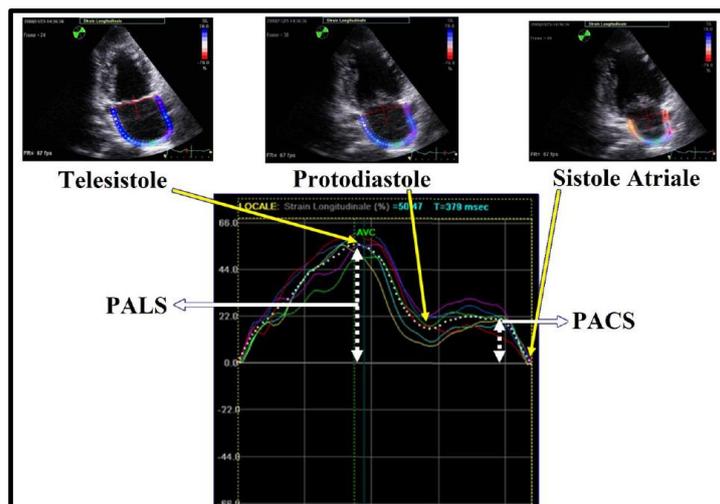


Figura 2. La figura mostra la misurazione del picco di strain atriale longitudinale (PALS) ed il picco di strain della contrazione atriale (PACS) in un soggetto rappresentativo (da Cameli et al., 2012, modificato).

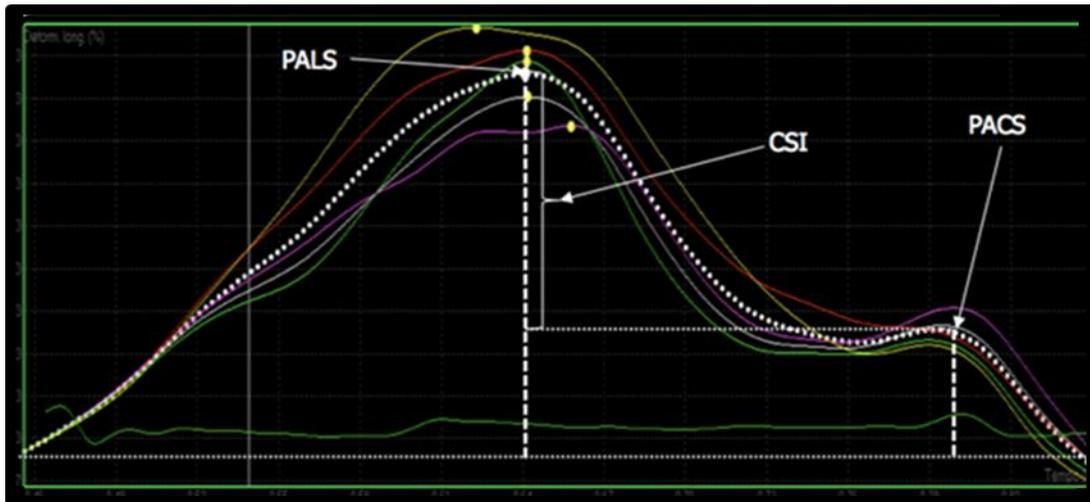


Figura 3. La figura mostra come sia possibile ottenere il valore di contraction strain index (CSI) a partire dal picco di strain atriale longitudinale (PALS) e dal picco di strain della contrazione atriale (PACS).



Figura 4. Esempio di misurazione delle aree dell'atrio sinistro in un cane coinvolto nello studio a partire dalla scansione apicale sinistra quattro camere. L'operatore traccia una linea che comprende tutto il perimetro dell'atrio (linea arancione) ed il software, riconoscendo il movimento delle pareti nel corso di un solo ciclo cardiaco, fornisce i valori di area atriale massima (AASmax) e minima (AASmin) e calcola automaticamente la frazione di accorciamento atriale.

Variabile	H	B1	B2	S	P value complessivo
N. di cani	23	52	36	39	
Età (anni)	7.0 ± 0.6	9.3 ± 0.4	11.1 ± 0.5**	12.8 ± 0.5** §§	< .001
Peso (kg)	10.5 ± 0.9	11.1 ± 1.0	9.3 ± 1.1	8.1 ± 0.9	.028
Sesso (M/F)	8/15	30/22	26/10	21/18	.042
Razza (n. di cani)	Meticci (9)	Meticci (23)	Meticci (11)	Meticci (25)	
	Cocker Spaniel (3)	CKCS (8)	Yorkshire Terrier (5)	Barboncino (5)	
		Yorkshire Terrier (4)	Beagle, Bolognese, CKCS, Bassotto Tedesco, Lagotto Romagnolo, Shih-Tzu (2)	Shih-Tzu (4)	
	Maltese, Miniature Schnauzer (2)	English setter, Jack Russel Terrier, Maltese, Miniature Poodle (2)		Maltese (2)	
	Altre razze (7)	Altre razze (9)	Altre razze (8)	Altre razze (3)	
Terapie (n. di cani) [dose]	Nessuna	Nessuna	Nessuna	benazepril (39) [0.38 mg/kg q12-24h]	
				pimobendan (35) [0.3 mg/kg q24h]	
				amlodipina (5) [0.3 mg/kg q24h]	
				spironolattone (3) [2 mg/kg q24h]	
				furosemide (39) [2 mg/kg q12h]	

Tabella 1. Variabili demografiche della popolazione oggetto di studio. I valori in grassetto hanno una differenza statistica espressa dai seguenti simboli:

** $P < .001$ rispetto alla classe H.

§§ $P < .001$ rispetto alla classe B1.

H: cani sani; B1: cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica (MMVM) in assenza di rimodellamento miocardico; B2: cani affetti da MMVM con rimodellamento miocardico ma compensati; S: cani affetti da MMVM esitata in insufficienza cardiaca congestizia; M: maschi; F: femmine; CKCS: Cavalier King Charles Spaniel.

Variabile	H (23)	B1 (52)	B2 (36)	S (39)	P value complessivo
Indici convenzionali					
FC (bpm)	137 ± 6	130 ± 4	135 ± 4.8	160 ± 4.6 ^{*,§§§,##}	< .001
MV E (cm/s)	71.3 ± 5.64	77.2 ± 3.71	112.7 ± 4.4 ^{***,§§§}	139.1 ± 4.31 ^{***,§§§,###}	< .001
MV A (cm/s)	63.2 ± 5.24	71.7 ± 3.49	83.7 ± 4.19 [*]	97.2 ± 4.03 ^{***,§§§}	< .001
MV E/A	1.2 ± 0.09	1.1 ± 0.06	1.4 ± 0.07 [§]	1.6 ± 0.07 ^{***,§§§}	< .001
Indici STE					
AASmax/ AoArea	2.2 (1.9-2.4)	2.7 (2.4-3.0)	3.6 (3.3-4.1) ^{***,§§}	5.2 (4.7-5.9) ^{***,§§§,##}	< .001
AASmin/ AoArea	0.9 (0.8-1.1)	1.3 (1.2-1.5)	2.0 (1.8-2.3) ^{***,§§}	3.5 (3.0-4.0) ^{***,§§§,###}	< .001
FAC (%)	55.1 ± 2.09	49.2 ± 1.39	44.7 ± 1.67 ^{***}	36.2 ± 1.60 ^{***,§§§,##}	< .001
PALS (%)	60.4 ± 2.36	49.8 ± 1.57 ^{**}	40.6 ± 1.89 ^{***,§§}	28.9 ± 1.81 ^{***,§§§,###}	< .001
PACS (%)	26.3 ± 1.77	24.3 ± 1.18	16.5 ± 1.42 ^{***,§§§}	10.6 ± 1.32 ^{***,§§§,##}	< .001
CSI (%)	42.8 ± 3.24	49 ± 2.16	40.0 ± 2.59 ^{**}	33.9 ± 2.49 ^{§§§}	< .001

Tabella 2. Variabili ecocardiografiche convenzionali e basate sul metodo Speckle Tracking Echocardiography (STE) nel totale dei cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica (MMVM) e nei diversi gruppi (H, B1, B2, S). I valori in grassetto hanno una differenza statistica espressa dai seguenti simboli:

* P < .05 rispetto alla classe H.

** P ≤ .01 rispetto alla classe H.

*** P ≤ .001 rispetto alla classe H.

§ P < .05 rispetto alla classe B1.

§§ P < .01 rispetto alla classe B1.

§§§ P < .001 rispetto alla classe B1.

P < .05 rispetto alla classe B2.

P ≤ .01 rispetto alla classe B2

P ≤ .001 rispetto alla classe B2

H: cani sani; B1: cani affetti da MMVM in assenza di rimodellamento miocardico; B2: cani affetti da MMVM con rimodellamento miocardico ma compensati; S: cani affetti da MMVM esitata in insufficienza cardiaca congestizia; FC: frequenza cardiaca; MV E vel: velocità di picco dell'onda mitralica diastolica precoce E; MV A vel: velocità di picco dell'onda mitralica diastolica tardiva A; MV E/A: rapporto tra onda E ed onda A; AASmax/AoArea: rapporto tra area massima atriale ed area aortica; AASmin/AoArea: rapporto tra area minima atriale ed area aortica; FAC: frazione di accorciamento atriale; PALS: picco di strain atriale longitudinale; PACS: picco di strain della contrazione atriale; CSI: contraction strain index.

Variable	AASmax/ AoArea		AASmin/ AoArea		FAC		PALS		PACS		CSI	
	r	P	r	P	r	P	R	P	r	P	r	P
FC (bpm)	0.268	< .001	0.300	< .001	-0.129	.116	-0.183	.025	-0.113	.170	-0.025	.757
AS/Ao	0.750	< .001	0.756	< .001	-0.538	< .001	-0.609	< .001	-0.539	< .001	-0.303	.002
LVIDd/Ao	0.697	< .001	0.693	< .001	-0.473	< .001	-0.540	< .001	-0.521	< .001	-0.332	< .001
LVIDs/Ao	0.452	< .001	0.458	< .001	-0.356	< .001	-0.315	< .001	-0.309	.001	-0.187	.022
MV E vel (cm/s)	0.644	< .001	0.669	< .001	-0.515	< .001	-0.593	< .001	-0.586	< .001	-0.385	< .001
MV A vel (cm/s)	0.405	< .001	0.384	< .001	-0.200	.014	-0.279	.001	-0.206	.012	-0.028	.731
MV E/A	0.312	< .001	0.362	< .001	-0.400	< .001	-0.398	< .001	-0.460	< .001	-0.385	< .001

Tabella 3. Analisi di correlazione tra le variabili basate sul metodo Speckle Tracking Echocardiography e specifici parametri clinici ed ecocardiografici convenzionali. I valori in grassetto hanno una correlazione significativa ($P < .001$, $r > 0.3$).

FC: frequenza cardiaca; AS/Ao: rapporto tra atrio sinistro ed aorta; LVIDd/Ao: rapporto tra diametro telediastolico ventricolare sinistro e diametro aortico; LVIDs/Ao: rapporto tra diametro telesistolico ventricolare sinistro e diametro aortico; MV E vel: velocità di picco dell'onda mitralica diastolica precoce E; MV A vel: velocità di picco dell'onda mitralica diastolica tardiva A; MV E/A: rapporto tra onda E ed onda A; AASmax/AoArea: rapporto tra area massima atriale ed area aortica; AASmin/AoArea: rapporto tra area minima atriale ed area aortica; FAC: frazione di accorciamento atriale; PALS: picco di strain atriale longitudinale; PACS: picco di strain della contrazione atriale; CSI: contraction strain index.

Bibliografia

1. Roșca M, Lancellotti P, Popescu BA, et al. Left atrial function: pathophysiology, echocardiographic assessment, and clinical applications. *Heart* 2011;97:1982-1989.
2. Miyaguchi K, Iwase M, Matsui H, et al. Role of left atrial booster pump function in a worsening course of congestive heart failure. *Jpn Circ J* 1992;56:509-517.
3. Toma Y, Matsuda Y, Moritani K, et al. Left atrial filling in normal human subjects: relation between left atrial contraction and left atrial early filling. *Cardiovasc Res* 1987;21:255-259.
4. Grant C, Bunnell IL, Greene DG. The reservoir function of the left atrium during ventricular systole. An angiocardiographic study of atrial stroke volume and work. *Am J Med* 1964;37:36-43.
5. Zhang Q, Yu CM. Atrial function. In: Marwick TH, Yu CM, Sun JP. *Myocardial Imaging - tissue doppler and speckle tracking*, 3rd ed. Oxford: Blackwell Futura, 2007; 255-264.
6. Braunwald E, Frahm CJ. Studies on Starling's law of the heart: observations on the hemodynamic functions of the left atrium in man. *Circulation* 1961;23:633-642.
7. Robinson TF, Factor SM, Sonnenblick EH. The heart as a suction pump. *Sci Am* 1986;254:84-91.
8. Yamaguchi M, Arakawa M, Tanaka T, et al. Study on left atrial contractile performance -participation of Frank-Starling mechanism. *Jpn Circ J* 1987;51:1001-1009.
9. Rossi A, Zardini P, Marino P. Modulation of left atrial function by ventricular filling impairment. *Heart Fail Rev* 2000;5:325-331.
10. To AC, Flamm SD, Marwick TH, et al. Clinical utility of multimodality LA imaging. Assessment of size, function, and structure. *J Am Coll Cardiol Cardiovasc Imaging* 2011;4:788-798.

11. Vizzardi E, D'Aloia A, Rocco E, et al. How should we measure left atrial size and function? *J Clin Ultrasound* 2012;40:155-166.
12. Baron Toaldo M, Guglielmini C, Diana A, et al. Feasibility and reproducibility of echocardiographic assessment of regional left atrial deformation and synchrony by tissue Doppler ultrasonographic imaging in healthy dogs. *Am J Vet Res* 2014;75:59-66.
13. Mondillo S, Galderisi M, Mele D, et al. Speckle-tracking echocardiography: a new technique for assessing myocardial function. *J Ultrasound Med* 2011;30:71-83.
14. Cameli M, Lisi M, Righini FM, et al. Novel echocardiographic techniques to assess left atrial size, anatomy and function. *Cardiovasc Ultrasound* 2012;10:4.
15. Cameli M, Lisi M, Giacomini E, et al. Chronic mitral regurgitation: left atrial deformation analysis by twodimensional speckle tracking echocardiography. *Echocardiography* 2011;28:327-334.
16. Vieira MJ, Teixeira R, Gonçalves L, et al. Left atrial mechanics: echocardiographic assessment and clinical implications. *J Am Soc Echocardiogr* 2014;27:463-478.
17. Yang LT, Liu YW, Shih JY, et al. Predictive value of left atrial deformation on prognosis in severe primary mitral regurgitation. *J Am Soc Echocardiogr* 2015;28:1309-1317.
18. Zois NE, Tidholm A, Nägga KM, et al. Radial and longitudinal strain and strain rate assessed by speckle-tracking echocardiography in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2012;26:1309-1319.
19. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, et al. Noninvasive clinical assessment of systolic torsional motion by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2013;27:69-75.
20. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, et al. Clinical assessment of systolic myocardial deformations in dogs with chronic mitral valve insufficiency using two-dimensional speckle-tracking echocardiography. *J Vet Cardiol* 2013;15:41-49.

21. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, et al. Influence of heart rate on myocardial function using two-dimensional speckle-tracking echocardiography in healthy dogs. *J Vet Cardiol* 2013;15:139-146.
22. Zois NE, Olsen NT, Moesgaard SG, et al. Left ventricular twist and circumferential strain in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2013;27:875-883.
23. Westrup U, McEvoy FJ. Speckle tracking echocardiography in mature Irish Wolfhound dogs: technical feasibility, measurement error and reference intervals. *Acta Vet Scand* 2013;55:41.
24. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, et al. Dobutamine stress echocardiography for assessment of systolic function in dogs with experimentally induced mitral regurgitation. *J Vet Intern Med* 2014;28:386-392.
25. Chen HY, Lien YH, Huang HP. Assessment of left ventricular function by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in small breed dogs with hyperadrenocorticism. *Acta Vet Scand* 2014;56:88.
26. Visser LC, Scansen BA, Schober KE, et al. Echocardiographic assessment of right ventricular systolic function in conscious healthy dogs: repeatability and reference intervals. *J Vet Cardiol* 2015;17:83-96.
27. Tisser LC, Scansen BA, Brown NV, et al. Echocardiographic assessment of right ventricular systolic function in conscious healthy dogs following a single dose of pimobendan versus atenolol. *J Vet Cardiol* 2015;17:161-172.
28. Locatelli C, Spalla I, Zanaboni AM, et al. Assessment of right ventricular function by feature-tracking echocardiography in conscious healthy dogs. *Res Vet Sci* 2016;105:103-110.
29. Spalla I, Locatelli C, Zanaboni AM, et al. Echocardiographic assessment of cardiac function by conventional and Speckle-Tracking Echocardiography in dogs with patent ductus arteriosus. *J Vet Intern Med* 2016;30:706-713.
30. Spalla I, Locatelli C, Zanaboni AM, et al. Speckle-Tracking Echocardiography in dogs with patent ductus arteriosus: effect of percutaneous closure on cardiac mechanics. *J Vet Intern Med* 2016;30:714-721.

31. Osuga T, Nakamura K, Lim SY, et al. Repeatability and reproducibility of measurements obtained via two-dimensional speckle tracking echocardiography of the left atrium and time-left atrial area curve analysis in healthy dogs. *Am J Vet Res* 2013;74:864-869.
32. Osuga T, Nakamura K, Morita T, et al. Effects of various cardiovascular drugs on indices obtained with two-dimensional speckle tracking echocardiography of the left atrium and time-left atrial area curve analysis in healthy dogs. *Am J Vet Res* 2015;76:702-709.
33. Nakamura K, Osuga T, Morishita K, et al. Prognostic value of left atrial function in dogs with chronic mitral valvular heart disease. *J Vet Intern Med* 2014;28:1746-1752.
34. Caivano D, Rishniw M, Patata V, et al. Left atrial deformation and phasic function determined by 2-dimensional speckle tracking echocardiography in healthy dogs. *J Vet Cardiol* 2016;18:146-155.
35. Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J Vet Intern Med* 2009;23:1142-1150.
36. Kraus MS, Moïse NS, Rishniw M, et al. Morphology of ventricular arrhythmias in the boxer as measured by 12-lead electrocardiography with pace-mapping comparison. *J Vet Intern Med* 2002;16:153-158.
37. Brown S, Atkins C, Bagley R, et al. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2007;21:542-558.
38. Boon JA. Evaluation of size, function, and hemodynamics. In: Boon JA, editor. *Veterinary echocardiography*, 2^o ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, 2011,153-255.
39. Rishniw M, Erb HN. evaluation of four 2-dimensional echocardiographic methods of assessing left atrial size in dogs. *J Vet Intern Med* 2000;14:429-435.
40. Phillips DE, Harkin KR. Hypothyroidism and myocardial failure in two Great Danes. *J Am Anim Hosp Assoc* 2003;39:133-137.

41. Dickinson AE, Rozanski EA, Rush JE. Reversible myocardial depression associated with sepsis in a dog. *J Vet Intern Med* 2007;21:1117-1120.
42. Chen HY, Lien YH, Huang HP. Assessment of left ventricular function by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in small breed dogs with hyperadrenocorticism. *Acta Vet Scand* 2014;56:88.
43. Martinelli E, Locatelli C, Bassis S, et al. Preliminary investigation of cardiovascular-renal disorders in dogs with chronic mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2016;30:1612-1618.
44. Paik J, Kang JH, Chang D, et al. Cardiogenic pulmonary edema in a dog following initiation of therapy for concurrent hypoadrenocorticism and hypothyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc* 2016;52:378-384.
45. Cameli M, Caputo M, Mondillo S, et al. Feasibility and reference value of left atrial longitudinal strain imaging by two-dimensional speckle tracking. *Cardiovasc Ultrasound* 2009;7:6.
46. Sun JP, Yang Y, Guo R, et al. Left atrial regional phasic strain, strain rate and velocity by speckle-tracking echocardiography: normal values and effect of aging in a large group of normal subjects. *Int J Cardiol* 2013;168:3473-3479.
47. Her AY, Choi EY, Shim CY, et al. Prediction of left atrial fibrosis with speckle tracking echocardiography in mitral valve disease: a comparative study with histopathology. *Korean Circ J* 2012;42:311-318.
48. Cameli M, Lisi M, Righini FM, et al. Usefulness of atrial deformation analysis to predict left atrial fibrosis and endocardial thickness in patients undergoing mitral valve operations for severe mitral regurgitation secondary to mitral valve prolapse. *Am J Cardiol* 2013;111:595-601.
49. Debonnaire P, Leong DP, Witkowski TG, et al. Left atrial function by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in patients with severe organic mitral regurgitation: association with guidelines-based surgical indication and postoperative (long-term) survival. *J Am Soc Echocardiogr* 2013;26:1053-1062.

50. Yang LT, Shih JY, Liu YW, et al. Effects of left atrial strain on functional capacity in chronic severe mitral regurgitation. *Int J Cardiol* 2013;168:e151-153.
51. Janus I, Noszczyk-Nowak A, Nowak M, et al. A comparison of the histopathologic pattern of the left atrium in canine dilated cardiomyopathy and chronic mitral valve disease. *BMC Vet Res* 2016;12:3.
52. Cha YM, Dzeja PP, Shen WK, et al. Failing atrial myocardium; energetic deficits accompany structural remodeling and electrical instability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284:H313-320.
53. Le Tourneau T, Messika-Zeitoun D, Russo A, et al. Impact of left atrial volume on clinical outcome in organic mitral regurgitation. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:570-578.
54. Moustafa SE, Alharthi M, Kansal M, et al. Global left atrial dysfunction and regional heterogeneity in primary chronic mitral insufficiency. *Eur J Echocardiogr* 2011;12:384-393.
55. Borg AN, Pearce KA, Williams SG, et al. Left atrial function and deformation in chronic primary mitral regurgitation. *Eur J Echocardiogr* 2009;10:833-840.
56. Borgarelli M, Savarino P, Crosara S, et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *J Vet Intern Med* 2008;22:120-128.
57. Borgarelli M, Crosara S, Lamb K, et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with preclinical chronic degenerative mitral valve disease attributable to myxomatous degeneration. *J Vet Intern Med* 2012;26:69-75.

Significato prognostico di specifici parametri ecocardiografici in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica con particolare interesse per gli indici convenzionali e avanzati di funzione atriale sinistra

Introduzione

Come già descritto nei paragrafi precedenti, la MMVM rappresenta la più comune causa di morbilità e mortalità cardiaca nella specie canina.¹⁻² Da un punto di vista fisiopatologico, la patologia progredisce inizialmente attraverso una fase preclinica di durata variabile nel corso della quale si assiste alla degenerazione dell'architettura mitralica, cui inevitabilmente segue lo sviluppo di un rigurgito valvolare. Il sovraccarico volumetrico indotto dal rigurgito stesso sarà dunque responsabile della progressiva ipertrofia eccentrica delle camere cardiache sinistre e, in ultima istanza, dell'aumento della pressione idrostatica nei distretti venosi e capillari polmonari con conseguente edema polmonare.¹⁻² Quest'ultima condizione rappresenta la complicanza più comune in corso di MMVM e risulta tipicamente contraddistinta da una scarsa qualità di vita e da un ridotto tempo di sopravvivenza. Sebbene alcuni soggetti siano affetti da forme a decorso particolarmente lento, altri sono invece colpiti da quadri aggressivi caratterizzati da sviluppo di edema polmonare in tempi relativamente brevi e ridotto tempo di sopravvivenza (mediamente < 9 mesi una volta sopraggiunta l'ICC).¹⁻⁴

Poichè, ad oggi, non sono del tutto chiari i meccanismi coinvolti nella manifestazione di una tanto variegata espressione fenotipica, è essenziale possedere strumenti capaci di garantire un'accurata stratificazione del rischio nella popolazione affetta. Il fine di tale approccio è quello di identificare precocemente i soggetti maggiormente predisposti ad un outcome infausto e trattarli nel modo più opportuno. Al contempo, nei casi di MMVM a progressione più benigna, una corretta stratificazione permetterebbe di evitare immotivate preoccupazioni da parte dei proprietari così come terapie cardiologiche non strettamente necessarie.⁴ Tra le metodiche impiegate in tal senso, l'ecocardiografia transtoracica gioca da tempo un ruolo chiave in quanto tecnica

non invasiva, ampiamente diffusa e di rapida esecuzione.⁵ Nello specifico, tra gli indici ecocardiografici maggiormente indagati ai fini prognostici si annoverano certamente quelli di dilatazione e sovraccarico volumetrico dell'atrio sinistro (ad esempio, l'aumento del rapporto AS/Ao e quello della MV E vel).^{3-4,6-7} Al contrario, scarsa attenzione è stata rivolta alla disfunzione di questa camera in corso di MMVM, ad oggi indagata solo da pochissimi autori.⁸⁻⁹ Se si considerano inoltre le numerose limitazioni inerenti le tecniche tradizionalmente impiegate per valutare la performance atriale nel cane, si comprende quanto arcaiche risultino ancora le conoscenze al riguardo in medicina veterinaria.

Al contrario, in cardiologia umana lo studio della funzione atriale riveste da diversi anni un ruolo cardine in corso di numerose patologie, tra cui cardiomiopatie, ipertensione sistemica e polmonare, disturbi del ritmo di origine sopraventricolare e valvulopatie.¹⁰⁻¹³ La progressiva espansione di queste conoscenze è stata resa possibile anche grazie all'avvento dello STE, recentissima tecnica capace di estrapolare informazioni inerenti gli indici di performance miocardica a partire dalle immagini bidimensionali in scala di grigio. Nello specifico, la tecnica si basa sul riconoscimento di gruppi di pixel all'interno della parete miocardica contraddistinte da peculiari caratteristiche acustiche (spekles) che, proprio per la loro unicità di riflessione acustica, possono essere seguite frame per frame durante il ciclo cardiaco in modo indipendente dall'angolo di insonazione. E' proprio dallo spostamento così calcolato che possono essere evinti i numerosi parametri di funzionalità, quali ad esempio quelli basati sullo strain (indice di deformazione di un determinato segmento miocardico) e sullo strain rate (velocità con cui tale deformazione avviene nel tempo).^{10,14-15} Va sottolineato che nell'uomo le variabili STE non solo hanno mostrato una soddisfacente applicabilità e riproducibilità, ma si sono anche dimostrate degli accurati indici prognostici capaci di fornire informazioni molto più dettagliate rispetto ai parametri ecocardiografici convenzionali.^{10,14-15} Quest'ultima affermazione assume tratti ancor più convincenti nell'ambito delle patologie contraddistinte da dilatazione atriale, tra cui la malattia cronica della valvola mitralica.^{12,17-18} Sebbene il nostro gruppo di ricerca sia stato in grado di dimostrare che anche nel cane tale metodica è applicabile e ben riproducibile, oltre che estremamente utile nel fornire parametri innovativi per un appropriato studio delle performance dell'atrio sinistro,¹⁹ resta tuttavia ancora da chiarire se i parametri

ecocardiografici derivati dallo STE siano allo stesso modo utili nel fornire informazioni prognostiche in corso di MMVM canina.¹⁸

E' proprio per dar risposta a tale quesito che abbiamo deciso di indagare la possibile correlazione tra specifici indici ecocardiografici e l'outcome di cani affetti da valvulopatia mitralica con particolare interesse per quelli di funzionalità atriale basati sul metodo STE.

Materiali e Metodi

Selezione della popolazione di studio

Tale studio è stato condotto come diretta continuazione del progetto di ricerca precedentemente descritto nella presente tesi. La popolazione oggetto di indagine è stata pertanto la medesima, considerando però soltanto i cani affetti da MMVM. Così come per la precedente ricerca, anche in questo caso per ogni soggetto sono stati raccolti dati inerenti segnalamento, anamnesi completa di storia clinica e terapia cardiologica in atto, oltre ai parametri clinici di base. Allo stesso modo ogni soggetto è stato sottoposto alla misurazione della pressione arteriosa sistemica,²⁰ ad un esame elettrocardiografico di superficie a 12 derivazioni,²¹ ad un'indagine radiografica del torace in duplice proiezione e ad una valutazione ecocardiografica completa.^{1,5} Tutti i soggetti indagati hanno dovuto inoltre soddisfare i seguenti criteri d'inclusione: 1) peso corporeo uguale o inferiore ai 20 kg; 2) età uguale o superiore ai 2 anni; 3) presenza all'auscultazione cardiaca del tipico soffio sistolico apicale sinistro; 4) evidenza ecocardiografica bidimensionale delle tipiche lesioni valvolari a carico dell'apparato mitralico; 5) evidenza mediante color-Doppler del tipico rigurgito mitralico; 6) presenza di un normale ritmo sinusale nel corso della valutazione ecocardiografica; 7) assenza di altre cardiopatie concomitanti, sia congenite che acquisite; 8) assenza di patologie sistemiche a diretta ripercussione sull'apparato cardiovascolare.

Studio ecocardiografico convenzionale e STE

Scansioni, metodiche e strumentazioni ecocardiografiche utili al conseguimento del nostro lavoro sono i medesimi descritti nel precedente progetto di ricerca (per maggiori dettagli si rimanda quindi alla corrispettiva sezione del progetto intitolato 'valutazione ecocardiografica della deformazione e della funzione atriale sinistra tramite *'speckle tracking echocardiography'* in cani sani e in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica'). Unica differenza da segnalare riguarda gli indici inerenti le aree atriali: in questo studio queste sono state difatti riportate al diametro

della radice aortica (AASmax/Ao e AASmin/Ao) anziché alla sua area, come invece fatto nel progetto precedente.

Analisi di sopravvivenza

Per l'analisi di sopravvivenza è stata effettuata un'intervista telefonica con il proprietario di ciascun cane arruolato. Le domande poste sono state atte ad identificare se il soggetto dal momento della diagnosi all'intervista fosse vivo o deceduto, se il decesso fosse sopraggiunto mediante eutanasia o per morte spontanea e se la causa presunta in ambo i casi fosse imputabile alla malattia cardiaca o meno. Ai fini di una più accurata classificazione della causa del decesso si è di posta particolare attenzione alla definizione di morte su base cardiaca, intesa come decesso a causa di ICC refrattaria alla terapia medica, eutanasia secondaria al peggioramento della MMVM e morte sopraggiunta entro due ore dalla manifestazione dei segni clinici dell'edema polmonare.³⁻⁴ Per quanto concerne la morte improvvisa, questa è stata considerata nei casi di decesso istantaneo a seguito di un collasso inaspettato senza alcun prodromo o quando la morte è sopraggiunta nel sonno senza che fossero stati notati dal proprietario sintomi sospetti prima che il cane si addormentasse.²² Anche questi casi sono stati inseriti nel gruppo della morte su base cardiaca ogni qual volta la morte improvvisa non fosse schiettamente giustificabile da altre ragioni mediche note concomitanti alla MMVM. Sono stati quindi annotati i tempi di sopravvivenza (per i soggetti deceduti) e di follow-up (per quelli ancora vivi).³⁻⁴

Analisi statistica

L'effetto di ciascuna variabile sulla sopravvivenza è stato valutato tramite curve di Kaplan-Meier confrontando le variabili continue suddivise in quartili tramite un test log-rank. I cani ancora vivi al termine dello studio e quelli deceduti per causa non cardiaca sono stati *'right-censored'*. Le variabili che mostravano un incremento/decremento del rischio di morte per ciascun quartile sono state utilizzate per una successiva analisi multivariata come dati continui. Un'analisi post hoc log-rank

è stata condotta tra coppie di quartili delle variabili continue per identificare eventuali differenze. I valori di cut-off sono stati divisi sulla base di differenze significative tra quartili sequenziali e poi impiegati per l'analisi multivariata come dati continui al fine di identificare differenze tra questi. Gli *hazard ratio* (rischi proporzionali, HR) ed i *confidence intervals* (intervalli di confidenza, CI) al 95% per i fattori univariati Cox sono stati calcolati utilizzando i rischi proporzionali Cox. Le variabili con un $P < .2$ nell'analisi univariata sono state introdotte nell'analisi di regressione Cox utilizzando un metodo di selezione progressivo manuale al fine di identificare predittori indipendenti di sopravvivenza. La variabile con l'associazione con morte cardiaca più significativa (valore di P più basso) è stata inserita nel modello. L'associazione tra le variabili è stata valutata con un test di correlazione di Spearman, in modo che solo una variabile venisse inclusa per ciascun paio di variabili che mostravano un coefficiente di correlazione $> .8$. L'ordine in cui le variabili erano inserite nel modello era basato sulla forza della loro associazione, con le variabili con il minor valore di P ottenuto dallo step precedente inserite per prime. E' stato poi valutato il modello finale di interazione a coppie tra le variabili. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite con software dedicati (SAS version 9.3, SAS Institute Inc., Cary (NC), USA; MedCalc version 12.6.1.0, MedCalc Software, Ostend, Belgium). Si è considerato significativo un overall P value $< .01$.

Risultati

Caratteristiche della popolazione oggetto di studio e dei parametri ecocardiografici

Le caratteristiche descrittive inerenti la popolazione oggetto di studio così come quelle riguardanti le variabili ecocardiografiche indagate, sia convenzionali che STE, sono le medesime descritte nel precedente progetto di ricerca descritto nella presente tesi, tenendo in considerazione però soltanto i cani affetti da MMVM (per maggiori dettagli si rimanda alla corrispondente sezione del progetto intitolato ‘valutazione ecocardiografica della deformazione e della funzione atriale sinistra tramite *‘speckle tracking echocardiography’* in cani sani ed in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica’).

Analisi di sopravvivenza

Dei 127 cani affetti da MMVM inclusi nel presente lavoro di tesi, è stato possibile ottenere informazioni sulla sopravvivenza in 115 soggetti (90.6%). Di questi 52 cani erano ancora vivi al momento della conclusione dello studio (follow-up medio, 539 giorni; range, 151-1259 giorni), 35 erano deceduti a seguito della cardiopatia (follow-up medio, 212 giorni; range, 16-1179 giorni) e 28 per cause non cardiogene (follow-up medio, 318 giorni; range, 81-1067 giorni). L’analisi di sopravvivenza basata sulle curve di Kaplan-Meier ha permesso di evidenziare le variabili impiegabili per la successiva analisi multivariata (Figura 1). Le seguenti variabili continue sono state dicotomizzate come categoriche: $AS/Ao > 1.7$, $MV E \text{ vel} > 1.3 \text{ m/s}$, $AASmax/Ao > 5.3$, $FAC < 36\%$, and $PALS < 30\%$. Nell’analisi univariata parametri come AS/Ao , $MV E \text{ vel}$, $AASmax/Ao$, FAC , $PALS$ e CSI si sono dimostrati in grado di predire con accuratezza il tempo di sopravvivenza. Tra queste, la variabile con il più alto HR è risultata essere la $MV E \text{ vel}$, seguita da AS/Ao e $AASmax/Ao$ (Tabella 1). Ciononostante, quando queste variabili sono state impiegate per l’analisi multivariata solo la $MV E \text{ vel} > 1.3 \text{ m/s}$ e la $AASmax/Ao > 5.3$ hanno mantenuto una significatività

statistica, con un HR rispettivamente del 3.47 (CI 1.29-9.29; P = .003) e 2.21 (CI 1-4.88; P < .001) (Tabella 2).

Discussione

In questo studio abbiamo dimostrato, per la prima volta in medicina veterinaria, il ruolo prognostico di specifici indici di funzionalità atriale sinistra basati sul metodo STE in cani affetti da MMVM in diverso stadio di progressione. L'identificazione di nuovi indici predittivi capaci di distinguere precocemente i pazienti contraddistinti da patologia a decorso benigno da quelli maggiormente propensi ad un outcome infausto rappresenta certamente un'evidenza scientifica degna di nota. Tale affermazione assume caratteri ancor più altisonanti in corso di MMVM, considerata la storia clinica di tale patologia, tanto variegata quanto mutevole.² E' proprio l'imprevedibilità di quest'ultima che ha spinto nel corso degli ultimi tre decenni numerosi gruppi di ricerca ad investigare indici prognostici sempre più accurati, sia clinici che strumentali.

Analizzando nel dettaglio quanto presente in letteratura veterinaria, tra i primi in ordine cronologico ad essere stati correlati ad una più rapida progressione della patologia vi sono l'età ed il sesso maschile, come dimostrato da uno studio condotto su 190 Bassotti Tedeschi da Olsen *et coll.* nel 1999.²³ Secondo un altro studio condotto da un gruppo di ricerca svedese, il CKCS rappresenterebbe un'altra razza canina caratterizzata da MMVM ad esordio particolarmente precoce ed andamento aggressivo.²⁴ Del medesimo gruppo di ricerca è anche lo studio che ha dimostrato un'associazione tra intensità del soffio cardiaco e una prognosi peggiore nei cani affetti da MMVM.²⁵ Oltre ai parametri clinici vanno certamente considerati anche quelli fruibili da metodiche di comune impiego in cardiologia veterinaria, tra cui l'elettrocardiografia di superficie, la radiologia toracica e l'ecocardiografia transtoracica. Per quanto concerne la prima metodica, un recente lavoro condotto su 64 cani con MMVM in stadio avanzato ha dimostrato che sia la presenza di fibrillazione atriale che il suo inadeguato controllo farmacologico rappresentano due fattori di rischio associati ad un minor tempo di sopravvivenza in questa specifica popolazione.²⁶ Per quanto riguarda invece la radiologia, secondo uno studio condotto su 94 CKCS affetti da MMVM in stadio preclinico ed esaminati più volte ogni 12 mesi fino allo sviluppo di edema polmonare, un incremento del VHS > 0.08 /mese sarebbe in grado di predire lo sviluppo dello scompenso cardiaco con un buon margine di precisione.²⁷ Prendendo quindi in considerazione i molteplici parametri ecocardiografici indagati nel tempo, il rapporto tra

AS/Ao gioca sicuramente un ruolo principe ai fini prognostici. Tale misura, espressione indiretta del grado di sovraccarico volumetrico dell'atrio sinistro, rappresenta l'indice ecocardiografico maggiormente impiegato in ambito clinico per determinare l'entità della MMVM. Uno studio condotto da Borgarelli *et coll.* nel 2008 ha difatti dimostrato come i cani con un rapporto AS/Ao > 1.7 mostrino oltre due volte il rischio di morte rispetto ai soggetti affetti ma con atrio sinistro di dimensioni normali.³ L'onda diastolica transmitralica precoce rappresenta un altro parametro ecocardiografico correlato alla pressione atriale sinistra, anch'esso dimostrato essere, da parte di più di un autore, un importante indice prognostico. Più nello specifico è stato evidenziato come una MV E vel superiore perlomeno a 1.2 m/s condizioni negativamente il survival time dei soggetti affetti da MMVM.^{4,7,28-30} Una simile importanza prognostica è rivestita da ulteriori variabili ecocardiografiche, come ad esempio una severa ipertrofia eccentrica ventricolare sinistra²⁸⁻²⁹ e la presenza di ipertensione polmonare di entità moderata-grave.³¹ In aggiunta ai suddetti parametri va segnalato come, negli ultimi anni, risultino sempre più numerosi i lavori inerenti specifici parametri laboratoristici, tra cui quelli indicativi di cardiopatia (ad esempio, peptidi natriuretici e troponina I)^{28,32-34} e di eventuali comorbidità ad essa associate (ad esempio, nefropatia cronica³⁵ ed anemia³⁶).

Sulla base di quanto detto appare chiaro come, fino ad oggi, la maggior parte degli studi veterinari si sia principalmente focalizzata su indici prognostici basati sulla dilatazione e sovraccarico delle camere cardiache sinistre; al contrario scarsa attenzione è stata finora rivolta al ruolo svolto dalla disfunzione atriale sinistra. Tale lacuna risulta ancor più eclatante se considerato l'imprescindibile ruolo emodinamico svolto da questa camera cardiaca, capace di modificare in maniera sostanziale il riempimento diastolico ventricolare e, di conseguenza, la gittata cardiaca.^{10,14-15} Tra tutte le tecniche ecocardiografiche volte allo studio della performance atriale, lo STE si è dimostrata nell'uomo la più accurata, oltre ad essere ben applicabile in ambito clinico ed altamente riproducibile.^{11-12,16-17,37-41} Data la carenza di simili dati in letteratura veterinaria e considerata la loro conclamata importanza in medicina umana, il nostro gruppo di ricerca si è recentemente posto l'obiettivo di applicare la metodica STE per lo studio della funzionalità atriale sinistra in una popolazione canina composta sia da cani sani che da cani affetti da MMVM in vario stadio di progressione.¹⁹ E' stato così possibile dimostrare un declino della funzionalità atriale sinistra di pari passo con il progredire

della classe di gravità della patologia valvolare e con il grado di dilatazione atriale,¹⁹ ricalcando quanto descritto nell'uomo.^{11-12,18,37,40-41}

Sulla base di tali risultati abbiamo quindi ipotizzato che gli indici di deformazione atriale basati sul metodo STE potessero essere impiegati come veri e propri fattori prognostici in corso di MMVM canina. Tale ipotesi è stata confermata dall'analisi univariata del presente studio; quest'ultima ha difatti mostrato come PALS, CSI e FAC riescano a predire con un buon margine di precisione la morte su base cardiogena nei cani affetti. Alla luce di tali risultati appare quindi evidente che anche nel cane, così come già da tempo assodato nell'uomo, la funzione atriale sinistra debba essere considerata parte integrante di una corretta valutazione cardiaca, capace di influenzare decorso clinico e prognosi.¹⁸ Va tuttavia specificato che nella successiva analisi multivariata soltanto l'incremento del rapporto AASmax/Ao (> 5.3) e quello della MV E vel (> 1.3 m/s) hanno conservato una valenza statisticamente significativa, mentre i suddetti indici STE non hanno mantenuto una simile significatività.

Sebbene il dato inerente l'onda E non rappresenti un risultato del tutto innovativo (esso difatti ricalca a pieno quanto già precedentemente dimostrato da altri gruppi di ricerca, a conferma dell'importanza rivestita dal sovraccarico atriale sinistro in corso di MMVM canina^{3-4,7}), quello inerente le dimensioni atriali merita invece ulteriori considerazioni. Abbiamo difatti dimostrato, per la prima volta in medicina veterinaria, la superiorità prognostica della metodica basata sulle aree rispetto al tradizionale rapporto AS/Ao, apparso nel nostro studio non particolarmente appropriato ai fini di una corretta stratificazione della popolazione canina affetta. E' interessante notare come una simile inadeguatezza sia stata recentemente descritta anche in un'altra indagine condotta in una popolazione canina sovrapponibile a quella da noi indagata.⁷ Per meglio comprendere le limitazioni correlate al rapporto AS/Ao, va considerato che tale metodica si basa sull'ipotesi che un'eventuale dilatazione atriale avvenga sempre uniformemente, ovvero in modo simmetrico, e che dunque la misurazione del singolo diametro trasversale dell'atrio sinistro vada di pari passo con quella degli altri diametri di questa camera. E' però noto che l'atrio, così come qualsiasi altro organo, possa dilatarsi in modo asimmetrico nella sua tridimensionalità (addirittura, in certi casi, interessando in modo isolato la sola superficie auricolare), inficiando in tal modo l'accuratezza del rapporto ottenuto su un solo piano di scansione.⁴² Va inoltre specificato che tale tecnica è

contraddistinta da una discutibile variabilità interoperatore soprattutto nei cani affetti da MMVM in stadio avanzato, ovvero pazienti in cui l'eccessiva distensione delle vene polmonari sembrerebbe limitare significativamente la precisione nella misurazione del diametro trasversale atriale (un inlet delle vene polmonari particolarmente disteso rende difatti complessa l'esatta determinazione del limite endocardico della parete libera atriale).⁴³ Per queste ragioni, in medicina umana, questa metodica è stata soppiantata negli ultimi anni da metodi bidimensionali basati su aree e volumi, maggiormente capaci di indagare la dilatazione atriale nella sua interezza.⁴² Sottolineiamo che un simile approccio sta riscuotendo via via sempre maggiore consenso anche in medicina veterinaria, soprattutto alla luce degli incoraggianti risultati recentemente ottenuti sia in cani sani⁴⁴ che affetti da MMVM,⁹ oltre che in gatti colpiti da cardiomiopatia ipertrofica (Baron Toaldo, dati non pubblicati).

Per quanto concerne le limitazioni di questo progetto di ricerca, va considerata in primis la modalità di determinazione della causa di morte. Difatti, sebbene le nostre interviste telefoniche siano state strutturate in modo tale da limitare al minimo informazioni erronee, non possiamo escludere con assoluta certezza che parte dei decessi definiti come cardiaci in effetti non lo fossero a causa di un'errata percezione da parte dei proprietari. Tuttavia tale limitazione va considerata come inevitabile in un progetto di questa natura e rappresenta difatti un bias di molte altre ricerche strutturate in modo analogo.³⁻⁴ Va inoltre considerata la possibile influenza dei farmaci cardiaci impiegati in alcuni dei cani oggetto di studio, come già trattato nel progetto di ricerca precedentemente descritto nella presente tesi. Infine, anche in tale indagine la disfunzione atriale sinistra non è stata ulteriormente confermata mediante tecniche di imaging avanzato (ad esempio, CT e RM) per ragioni di ordine etico, data la necessità dell'anestesia generale per l'esecuzione delle stesse ed il conseguente rischio particolarmente elevato soprattutto nei cani appartenenti al gruppo S.

Conclusioni

In conclusione, nel presente progetto di ricerca è stato dimostrato che gli indici di funzionalità atriale sinistra basati sul metodo STE sono utili per predire la sopravvivenza in cani affetti da MMVM. Tali parametri possono pertanto essere intesi come validi indici prognostici da impiegare nella pratica clinica in associazione alle variabili ecocardiografiche convenzionali. Inoltre, nell'ambito degli indici ecocardiografici di ingrandimento atriale, è stato possibile evidenziare la superiorità prognostica della metodica basata sulle aree in confronto al tradizionale rapporto basato sui diametri (AS/Ao). Ambedue i risultati ricalcano quanto già noto in medicina umana e sottolineano l'importanza di una valutazione ecocardiografica globale, volta sia ad un'adeguata quantificazione delle dimensioni delle camere cardiache sia all'oggettivazione della loro funzionalità.

Figure e tabelle

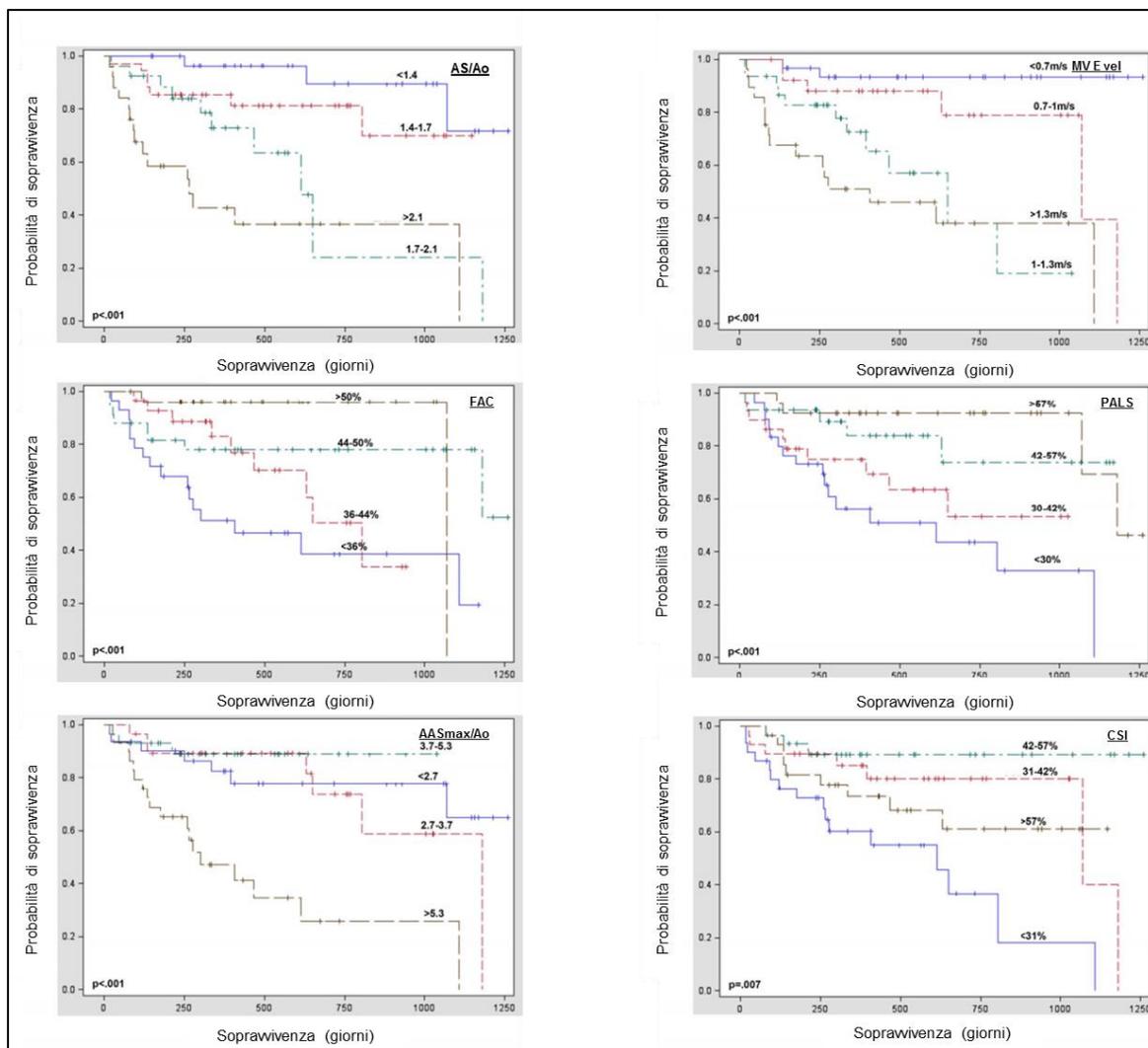


Figura 1. Cuve di sopravvivenza Kaplan-Meier in 115 cani affetti da malattia cronica della valvola mitralica. Si noti il significativo impatto in termini di sopravvivenza di alcune delle variabili selezionate, come ad esempio una velocità di picco dell'onda mitralica diastolica precoce (MV E vel) > 1.3 m/s, un rapporto tra area massima atriale e diametro aortico (AASmax/Ao) > 5.3, una frazione di accorciamento atriale (FAC) < 36% ed un picco di strain atriale longitudinale (PALS) < 30%. AS/Ao: rapporto tra diametro atriale sinistro e diametro aortico; CSI: contraction strain index.

Variabile	HR	95% CI	P value
AS/Ao > 1.7	5.1	2.41-10.8	< .01
MV E vel > 1.3 m/s	6.49	2.76-15.25	< .01
AASmax/Ao > 5.3	5.05	2.54-10.05	< .01
FAC < 36%	0.30	0.15-0.59	< .01
PALS < 30%	0.32	0.16-0.63	.001
CSI per ogni calo del 1%	0.97	0.95-0.99	.007

Tabella 1. Analisi univariata condotta in 115 cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica. HR: hazard ratio; CI: confidence interval; AS/Ao: rapporto tra diametro atriale sinistro e diametro aortico; MV E vel: velocità di picco dell'onda mitralica diastolica precoce E; AASmax/Ao: rapporto tra area massima atriale e diametro aortico; FAC: frazione di accorciamento atriale; PALS: picco di strain atriale longitudinale; CSI: contraction strain index.

Variabile	HR	95% CI	P value
MV E vel > 1.3 m/s	3.47	1.29-9.29	.003
AASmax/Ao > 5.3	2.21	1-4.88	< .001

Tabella 2. Analisi multivariata condotta in 115 cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica. HR: hazard ratio; CI: confidence interval; MV E vel: velocità di picco dell'onda mitralica diastolica precoce E; AASmax/Ao: rapporto tra area massima atriale e diametro aortico.

Bibliografia

1. Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J Vet Intern Med* 2009;23:1142-1150.
2. Borgarelli M, Haggstrom J. Canine degenerative myxomatous mitral valve disease: natural history, clinical presentation and therapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010;40:651-663.
3. Borgarelli M, Savarino P, Crosara S, et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *J Vet Intern Med* 2008;22:120-128.
4. Borgarelli M, Crosara S, Lamb K, et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with preclinical chronic degenerative mitral valve disease attributable to myxomatous degeneration. *J Vet Intern Med* 2012;26:69-75.
5. Chetboul V, Tissier R. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:127-148.
6. Serres F, Chetboul V, Tissier R, et al. Chordae tendinae rupture in dogs with degenerative mitral valve disease: prevalence, survival and prognostic factors (114 cases, 2001-2006). *J Vet Intern Med* 2007;21:258-264.
7. Sargent J, Muzzi R, Mukherjee R, et al. Echocardiographic predictors of survival in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2015;17:1-12.
8. Nakamura K, Osuga T, Morishita K, et al. Prognostic value of left atrial function in dogs with chronic mitral valvular heart disease. *J Vet Intern Med* 2014;28:1746-1752.
9. Höllmer M, Willesen JL, Tolver A, et al. Left atrial volume and function in dogs with naturally occurring myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2016;19:24-34.
10. Roşca M, Lancellotti P, Popescu BA, et al. Left atrial function: pathophysiology, echocardiographic assessment, and clinical applications. *Heart* 2011;97:1982-1989.

11. Cameli M, Lisi M, Giacomini E, et al. Chronic mitral regurgitation: left atrial deformation analysis by two-dimensional speckle tracking echocardiography. *Echocardiography* 2011;28:327-334.
12. Cameli M, Lisi M, Righini FM, et al. Novel echocardiographic techniques to assess left atrial size, anatomy and function. *Cardiovasc Ultrasound* 2012;10:4.
13. Vieira MJ, Teixeira R, Gonçalves L, et al. Left atrial mechanics: echocardiographic assessment and clinical implications. *J Am Soc Echocardiogr* 2014;27:463-478.
14. To AC, Flamm SD, Marwick TH, et al. Clinical utility of multimodality LA imaging. Assessment of size, function, and structure. *J Am Coll Cardiol Cardiovasc Imaging* 2011;4:788-798.
15. Vizzardi E, D'Aloia A, Rocco E, et al. How should we measure left atrial size and function? *J Clin Ultrasound* 2012;40:155-166.
16. Borg AN, Pearce KA, Williams SG, et al. Left atrial function and deformation in chronic primary mitral regurgitation. *Eur J Echocardiogr* 2009;10:833-840.
17. Candan O, Ozdemir N, Aung SM, et al. Left atrial longitudinal strain parameters predict postoperative persistent atrial fibrillation following mitral valve surgery: a speckle tracking echocardiography study. *Echocardiography* 2013;30:1061-1068.
18. Yang LT, Liu YW, Shih JY, et al. Predictive value of left atrial deformation on prognosis in severe primary mitral regurgitation. *J Am Soc Echocardiogr* 2015;28:1309-1317.
19. Baron Toaldo M, Romito G, Guglielmini, et al. Assessment of left atrial deformation and function using two-dimensional speckle tracking echocardiography in healthy dogs and in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2016;30:368.
20. Brown S, Atkins C, Bagley R, et al. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2007;21:542-558.
21. Kraus MS, Moïse NS, Rishniw M, et al. Morphology of ventricular arrhythmias in the boxer as measured by 12-lead electrocardiography with pace-mapping comparison. *J Vet Intern Med* 2002;16:153-158.

22. Calvert CA, Hall G, Jacobs G, et al. Clinical and pathologic findings in Doberman pinschers with occult cardiomyopathy that died suddenly or developed congestive heart failure: 54 cases (1984–1991). *J Am Vet Med Assoc* 1997;210:505-511.
23. Olsen LH, Fredholm M, Pedersen HD. Epidemiology and inheritance of mitral valve prolapse in Dachshunds. *J Vet Intern Med* 1999;13:448-456.
24. Häggström J, Hansson K, Kwart C, et al. Chronic valvular disease in the cavalier King Charles spaniel in Sweden. *Vet Rec* 1992;131:549-553.
25. Häggström J, Kwart C, Hansson K. Heart sounds and murmurs: changes related to severity of chronic valvular disease in the Cavalier King Charles spaniel. *J Vet Intern Med* 1995;9:75-85.
26. Jung SW, Sun W, Griffiths LG, et al. Atrial fibrillation as a prognostic indicator in medium to large-sized dogs with myxomatous mitral valvular degeneration and congestive heart failure. *J Vet Intern Med* 2016;30:51-57.
27. Lord PF, Hansson K, Carnabuci C, et al. Radiographic heart size and its rate of increase as tests for onset of congestive heart failure in Cavalier King Charles Spaniels with mitral valve regurgitation. *J Vet Intern Med* 2011;25:1312-1319.
28. Moonarmart W, Boswood A, Luis Fuentes V, et al. N-terminal pro B-type natriuretic peptide and left ventricular diameter independently predict mortality in dogs with mitral valve disease. *J Small Anim Pract* 2010;51:84-96.
29. Hezzell MJ, Boswood A, Moonarmart W et al. Selected echocardiographic variables change more rapidly in dogs that die from myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:269-279.
30. Sargent J, Muzzi R, Mukherjee R, et al. Echocardiographic predictors of survival in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2015;17:1-12.
31. Borgarelli M, Abbott J, Braz-Ruivo L, et al. Prevalence and prognostic importance of pulmonary hypertension in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2015;29:569-574.
32. Reynolds CA, Brown DC, Rush JE, et al. Prediction of first onset of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease: the PREDICT cohort study. *J Vet Cardiol* 2012;14:193-202.

33. Greco DS, Biller B, Van Liew CH. Measurement of plasma atrial natriuretic peptide as an indicator of prognosis in dogs with cardiac disease. *Can Vet J* 2003;44:293-297.
34. Hezzell MJ, Boswood A, Chang YM, et al. The combined prognostic potential of serum high-sensitivity cardiac troponin I and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with degenerative mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2012;26:302-311.
35. Martinelli E, Locatelli C, Bassis S, et al. Preliminary investigation of cardiovascular-renal disorders in dogs with chronic mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2016;30:1612-1618.
36. Yu IB, Huang HP. Prevalence and prognosis of anemia in dogs with degenerative mitral valve disease. *Biomed Res Int* 2016;2016:4727054.
37. Cameli M, Caputo M, Mondillo S, et al. Feasibility and reference value of left atrial longitudinal strain imaging by two-dimensional speckle tracking. *Cardiovasc Ultrasound* 2009;7:6.
38. Her AY, Choi EY, Shim CY, et al. Prediction of left atrial fibrosis with speckle tracking echocardiography in mitral valve disease: a comparative study with histopathology. *Korean Circ J* 2012;42:311-318.
39. van Garsse L, Gelsomino S, Lucà F, et al. Left atrial strain and strain rate before and following restrictive annuloplasty for ischaemic mitral regurgitation evaluated by two-dimensional speckle tracking echocardiography. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013;14:534-543.
40. Debonnaire P, Leong DP, Witkowski TG, et al. Left atrial function by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in patients with severe organic mitral regurgitation: association with guidelines-based surgical indication and postoperative (long-term) survival. *J Am Soc Echocardiogr* 2013;26:1053-1062.
41. Yang LT, Shih JY, Liu YW, et al. Effects of left atrial strain on functional capacity in chronic severe mitral regurgitation. *Int J Cardiol* 2013;168:e151-153.
42. Lester SJ, Ryan EW, Schiller NB, et al. Best method in clinical practice and in research studies to determine left atrial size. *Am J Cardiol* 1999;84:829-832.

43. Rishniw M. Interobserver variability in two-dimensional echocardiographic left atrial measurements is complex. 25th Annual Congress of the European College of Veterinary Internal Medicine, Lisbona, 10-12 settembre 2015.
44. Wesselowski S, Borgarelli M, Bello NM, et al. Discrepancies in identification of left atrial enlargement using left atrial volume versus left atrial-to-aortic root ration in dogs. *J Vet Intern Med* 2014;28:1527-1533.

Valutazione ecocardiografica delle alterazioni dell'apparato mitralico e della direzione del rigurgito valvolare e loro valore prognostico in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica

Introduzione

La valvola mitralica è un complesso apparato funzionale che si compone di diverse strutture anatomiche, tra cui anulus, lembi, corde tendinee, muscoli papillari, oltre a miocardio atriale e ventricolare sinistro.¹⁻² Dall'integrità anatomica e dal reciproco rapporto di ciascuna di queste componenti dipende inevitabilmente l'integrità funzionale della valvola stessa. In questo contesto, dunque, risulta imprescindibile una trattazione dettagliata dell'anatomia macro- e microscopica delle componenti valvolari sopra citate, oltre che del ruolo da esse giocato nel corso del ciclo cardiaco. Per quanto concerne l'anulus mitralico, esso svolge primariamente un ruolo di sostegno, fungendo da supporto fibroso dei lembi. Macroscopicamente appare caratterizzato da una geometria complessa a 'sella di cavallo inclinata' con punto più alto situato nella parte mediana dell'anulus e quello più basso collocato invece anterolateralmente e posterolateralmente in prossimità delle commissure valvolari.³ Istologicamente è costituito da tessuto fibroso e muscolare: il primo rappresenta la porzione che dà ancoraggio al lembo mitralico anteriore, in prossimità della radice aortica, mentre il secondo corrisponde ai suoi 2/3 posteriori ed è la porzione sulla quale si ancora il lembo mitralico parietale.² Tale peculiarità strutturale conferisce al segmento posteriore maggiore flessibilità e mobilità rispetto a quello anteriore, ancorato a strutture che non vanno incontro a dilatazione (dette 'trigoni'). Ciò spiega perché durante la sistole ventricolare si assista ad un'azione sfinterica dell'anulus (in grado di ridurre le proprie dimensioni anche del 20-40%) che diminuisce l'area valvolare ed avvicina i lembi, assicurando così una maggiore coaptazione. La coaptazione valvolare è anche favorita anche dalla pressione esercitata sull'anulus anteriore dalla radice aortica, dilatata dal volume di sangue che la attraversa in sistole. A maggiore comprova dell'adattamento

dinamico di tale struttura alle diverse fasi cardiache, va infine considerata la capacità dell'anulus di dirigersi verso l'apice del cuore in sistole, aumentando in tal modo la capacità dell'atrio sinistro di accettare il sangue proveniente dalle vene polmonari. Successivamente, durante la diastole, può invertire tale movimento avvicinandosi maggiormente alla base del cuore favorendo in tal modo il riempimento diastolico ventricolare. Per quanto riguarda i lembi valvolari, fisiologicamente sottili, deformabili e translucidi, sono convenzionalmente classificati in base alla loro disposizione anatomica in settale e parietale. Macroscopicamente risultano separati tra di loro per mezzo di rientranze definite regioni commissurali, situate nelle porzioni anterolaterale e posteromediale dell'anulus valvolare.² Ben più complessa è la loro conformazione microscopica, contraddistinta da quattro strati: *atrialis*, *spongiosa*, *fibrosa* e *ventricularis*.² La *atrialis* e la *ventricularis* presentano una simile architettura caratterizzata da numerose cellule endoteliali apposte su un sottile strato di fibre elastiche e collagene, oltre che di fibroblasti; più rare sono invece a questo livello le fibre muscolari lisce. La *spongiosa* è situata immediatamente al di sotto dell'*atrialis* ed è costituita da fibre collagene, fibre elastiche e fibroblasti lassamente distribuiti in un substrato ricco di mucopolisaccaridi, acido ialuronico e condroitinsolfato. Ancora più in profondità si colloca la *fibrosa*, formata principalmente da fibre collagene disposte densamente e ben organizzate.² I lembi valvolari sono connessi ai muscoli papillari tramite le corde tendinee, robusti fasci di tessuto connettivo fibroso.² Tali strutture possono essere classificate in base a vari aspetti, tra cui il punto di inserzione sui lembi e la funzione assolta. In linea generale si può dire che corde di primo ordine originano dall'apice dei muscoli papillari e, dividendosi progressivamente come le diramazioni di un albero, si inseriscono sui margini liberi dei lembi. Esse hanno il compito di far sì che durante la sistole i margini liberi dei lembi non prollassino in sede atriale. Quelle di secondo ordine sono più spesse e in numero minore rispetto alle precedenti; originano anch'esse dall'apice dei muscoli papillari e si inseriscono sulla superficie ventricolare dei lembi, raggiungendo concentrazioni maggiori a livello di quello settale. La loro funzione è quella di evitare che i lembi assumano una patologica conformazione a cupola. Infine, le corde di terzo ordine originano direttamente dalle trabecole della parete del ventricolo sinistro e si inseriscono sulla superficie ventricolare del lembo parietale in prossimità dell'anulus; queste contribuiscono al supporto della parte centrale

dei lembi.² Per quanto concerne infine i muscoli papillari, questi originano tra il terzo medio e il terzo apicale della parete libera del ventricolo sinistro. Sono allineati perpendicolarmente rispetto all'anulus e contribuiscono alla tensione verticale su corde e lembi. I muscoli papillari sono funzionalmente dipendenti dalla morfologia e contrattilità globale e regionale del ventricolo sinistro, giocando un ruolo determinante nella funzione dell'apparato mitralico. Difatti, durante la diastole, tali strutture delimitano il tratto di afflusso della camera ventricolare, mentre durante la sistole partecipano al quel gioco di tensioni finalizzato alla corretta coaptazione valvolare.²

Tali conoscenze risultano essenziali per meglio comprendere i rimaneggiamenti patologici tipici della MMVM canina e la sua evoluzione.⁴ Macroscopicamente tale valvulopatia risulta contraddistinta da lesioni nodulari inizialmente di piccole dimensioni e perlopiù coinvolgenti soltanto il margine libero valvolare. Con l'avanzare della patologia queste divengono via via sempre più grandi e diffuse lungo tutta la superficie valvolare, fino a fondersi tra di loro formando vere e proprie vegetazioni. Alterazioni di severa entità possono interessare anche le corde tendine, con loro rottura e conseguente prollasso dei lembi valvolari in sede atriale durante la sistole ventricolare.⁵⁻⁶ Un recente studio basato sulla valutazione della geometria valvolare mediante ecocardiografia tridimensionale ha inoltre mostrato che i cani colpiti da MMVM mostrano un lembo anteriore più lungo e caratterizzato da un'area maggiore rispetto a cani sani, oltre ad un lembo settale più corto.⁷ Dato ancor più interessante è quello inerente le modificazioni a cui va incontro l'anulus mitralico con l'avanzare della valvulopatia. È stato infatti dimostrato come il fisiologico assetto 'a sella di cavallo inclinata' si appiattisca sempre più fino a quasi scomparire e che la fisiologica morfologia ellittica divenga via via sempre più circolare, compromettendo ulteriormente la normale coaptazione valvolare.⁷ Alle alterazioni macroscopiche si associano quelle istologiche, tra cui l'abbondante deposizione di glicosaminoglicani con conseguente espansione della spongiosa. Si nota anche una significativa alterazione anche a livello di zona fibrosa contraddistinta da disorganizzazione, distruzione ed anomalie nella maturazione del collagene. Pure la componente cellulare non è scevra da alterazioni: le cellule interstiziali presentano difatti nuclei e mitocondri alterati, oltre ad un citoscheletro disorganizzato ed assenza delle fisiologiche vescicole secretorie, mentre le

cellule endoteliali si diradano lasciando svestite vaste aree valvolari con conseguente esposizione della sottostante matrice extracellulare.⁶

Tra le varie tecniche volte ad ingare le alterazioni valvolari in corso di MMVM canina, l'ecocardiografia transtoracica rappresenta, ad oggi, il gold standard diagnostico poichè non invasiva, ampiamente diffusa e capace di fornire informazioni dettagliate circa l'anatomia delle strutture affette. Ciò spiega la moltitudine di studi condotti al riguardo da parte di numerosi gruppi di ricerca nel corso delle ultime tre decadi. Il forte interesse della comunità scientifica ha permesso non solo di descrivere le caratteristiche e la prevalenza dei vari indici ecocardiografici di danno valvolare, ma anche di identificarne il valore prognostico. Tra questi meritano sicuramente una menzione particolare il prollasso valvolare,⁸⁻¹² la rottura delle corde tendinee¹³ e l'entità del rigurgito mitralico,^{12,14-16} tutti reperti particolarmente diffusi nei soggetti affetti da MMVM e dallo spiccato valore clinico. Tali dati ricalcano da vicino quanto noto in medicina umana, dove l'entità della compromissione valvolare e del jet rigurgitante sono quotidianamente impiegati non solo per identificare i soggetti a maggior rischio di sviluppo di complicazioni, ma anche per decidere il migliore approccio terapeutico in corso di malattia mitralica.¹⁷⁻²¹

Sebbene l'importanza dei suddetti reperti appaia chiara in ambo le specie, ad oggi, poco è noto riguardo al ruolo giocato dalla direzione del rigurgito. Sulla base di alcuni studi presenti in letteratura umana sembrerebbe che direzioni differenti abbiano ripercussioni emodinamiche differenti, condizionando la distribuzione radiografica assunta dall'edema polmonare.²²⁻²⁵ Nella specie canina simili dati sono stati ottenuti da Diana *et coll.* nel 2009 analizzando 46 cani affetti da MMVM in stadio ACVIM C e D mediante l'uso combinato di ecocardiografia e radiologia toracica.²⁶ Più nello specifico, dei 31 cani con evidenza ecocardiografica di jet centrale la quasi totalità aveva segni radiografici indicativi di edema simmetrico, mentre dei 15 cani con jet eccentrico la maggior parte presentava un edema asimmetrico (spesso coinvolgente il lobo caudale destro).²⁶ Tali dati appaiono dunque in linea con quanto noto nell'uomo, dove i jet indirizzati prevalentemente verso la vena polmonare destra portano ad un aumento pressorio responsabile della localizzazione dell'edema in questo emitorace.²²⁻²³

Nonostante l'originalità di questi dati preliminari, al momento in medicina

veterinaria non esistono studi che abbiano correlato il grado ed il tipo di alterazioni dell'apparato mitralico con la direzione del jet di rigurgito valvolare, né tantomeno studi che abbiano correlato quest'ultimo elemento con il survival time dei cani affetti da MMVM. Lo scopo di questo lavoro sperimentale è stato pertanto quello di fornire una dettagliata descrizione delle caratteristiche ecocardiografiche di specifiche alterazioni valvolari, oltre che del conseguente jet rigurgitante, e di valutare se una determinata direzione di quest'ultimo si associ ad una peggiore prognosi in un'ampia popolazione di cani affetti da MMVM in diverso stadio di progressione.

Materiali e Metodi

Selezione della popolazione di studio

Ai fine del nostro progetto sono stati arruolati tutti i cani affetti da MMVM riferiti presso il DIMEVET dell'Ateneo di Bologna, nell'arco di tempo compreso tra Giugno 2011 e Agosto 2016. Per ogni soggetto sono stati raccolti dati inerenti segnalamento, anamnesi completa di storia clinica e terapia cardiologica in atto, oltre ai parametri clinici di base. E' stata inoltre effettuata una valutazione cardiologica comprensiva di misurazione della pressione arteriosa sistemica,²⁷ esame elettrocardiografico di superficie a 12 derivazioni,²⁸ indagine radiografica del torace in duplice proiezione ed ecocardiografica transtoracica. Si è successivamente proceduto a suddividere i cani arruolati in 3 gruppi sulla base della classificazione proposta dall'ACVIM nel 2009²⁹ in parte modificata dal nostro gruppo di ricerca, come precedentemente descritto nel primo progetto della presente tesi (per maggiori dettagli si rimanda quindi alla corrispettiva sezione dello studio intitolato 'valutazione ecocardiografica della deformazione e della funzione atriale sinistra tramite *'speckle tracking echocardiography'* in cani sani ed in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica').

Studio ecocardiografico e analisi dei dati

Scansioni, metodiche e strumentazioni ecocardiografiche utili al conseguimento del nostro lavoro, oltre ai criteri di inclusione ed esclusione applicati sono i medesimi descritti nei precedenti progetti di ricerca (per maggiori dettagli si rimanda dunque alla corrispettiva sezione del progetto intitolato 'valutazione ecocardiografica della deformazione e della funzione atriale sinistra tramite *'speckle tracking echocardiography'* in cani sani e in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica'). Tale studio si è però distinto dai precedenti per la particolare attenzione posta all'identificazione delle alterazioni valvolari. Nello specifico sono stati valutati in proiezioni parasternale destra asse lungo quattro e cinque camere ed apicale sinistra

quattro e due camere i seguenti parametri: 1) grado di severità del rigurgito mitralico (lieve/moderata/grave); 2) lembo affetto da malattia (settale/parietale/entrambi); 3) prollasso valvolare (presente/assente); 4) flail valvolare (presente/assente); 5) evidenza di rottura di corde tendinee (presente/assente); 6) direzione assunta dal jet di rigurgito all'interno dell'atrio sinistro. Più precisamente riguardo quest'ultimo parametro, l'uso combinato delle suddette scansioni ha permesso l'identificazione di jet a direzione assiale rispetto all'asse maggiore del ventricolo (jet centrali) e jet a direzione eccentrica. Questi ultimi sono stati ulteriormente classificati in base alla parete atriale verso la quale erano diretti ed alla disposizione anatomica del cuore. Tale approccio ha permesso di identificare nella scansione apicale quattro camere le direzioni laterale e settale, mentre nella scansione apicale due camere le direzioni anteriore e posteriore. In ambedue le scansioni è stato possibile identificare ovviamente jet a direzione centrale ed anche jet multipli (nel caso in fossero presenti contemporaneamente due o più jet a differente direzione). Infine, la descrizione di ogni jet rigurgitante ha previsto il suffisso 'supero' ad indicare il movimento retrogrado dal ventricolo verso l'atrio sinistro.

Analisi di sopravvivenza

L'analisi di sopravvivenza è stata effettuata mediante intervista telefonica con il proprietario di ciascun cane arruolato, come descritto nel precedente progetto di ricerca (per maggiori informazioni si rimanda dunque alla corrispondente sezione del progetto intitolato 'significato prognostico di specifici parametri ecocardiografici in cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica con particolare interesse per gli indici convenzionali ed avanzati di funzione atriale sinistra').

Analisi statistica

La statistica descrittiva è stata condotta con un apposito programma (Microsoft Excel (Microsoft Office 2011, Microsoft Corporation, Bellevue, WA). I dati sono stati testati per la loro distribuzione con un test D'Agostino-Pearson. Poiché tutti i dati risultavano normalmente distribuiti, sono stati espressi come media \pm deviazione standard (DS) o come percentuali sui numeri assoluti o relativi. Per l'analisi di comparazione tra gruppi relativamente alle alterazioni dell'apparato valvolare mitralico

e le direzioni dei jet rigurgitanti (variabili categoriche), è stato applicato un test esatto di Fisher o un test Chi quadro a seconda delle necessità. L'effetto della direzione del jet rigurgitante (valutata esclusivamente in scansione apicale quattro camere) sulla sopravvivenza è stato valutato con l'uso di curve di Kaplan-Meier, utilizzando un test log-rank. I cani ancora vivi al termine dello studio e quelli deceduti per cause non cardiache sono stati '*right-censored*'. Un valore di $P < .05$ è stato considerato statisticamente significativo. Questa parte dell'analisi è stata condotta utilizzando un programma dedicato (Prism 5, GraphPad Software Inc., San Diego, CA).

Risultati

Caratteristiche della popolazione oggetto di studio

Sulla base dei criteri d'inclusione sono stati selezionati 113 cani divisi in 3 gruppi appartenenti a 17 razze differenti, includendo 55 femmine, di cui 38 sterilizzate, e 58 maschi, di cui 12 castrati (Tabella 1). La media (\pm DS) dell'età dei cani esaminati è di 11 ± 0.3 anni, con un peso medio di 8.5 ± 3.9 kg. Nel gruppo B1 sono stati inseriti 37 soggetti, di cui 19 maschi interi e 4 castrati, 4 femmine intere e 10 sterilizzate, con un'età media di 8.6 anni e un peso medio di 10 kg. La classe B2 comprende 51 soggetti, di cui 19 maschi interi e 5 castrati, 9 femmine intere e 18 sterilizzate, con un'età media di 11,2 anni e un peso medio di 8.9 kg. Infine il gruppo S è risultato costituito da 25 soggetti, di cui 8 maschi interi e 3 castrati, 4 femmine intere e 10 sterilizzate, con un'età media di 7.8 anni e un peso medio di 11.9 kg. Tutti i cani appartenenti a questo gruppo hanno ricevuto una o più molecole volte al controllo dell'ICC. Più precisamente 24 hanno ricevuto furosemide (dose iniziale media: 2 mg/kg per os (PO) q12h; dose massima media: 4 mg/kg PO q12h), 22 benazepril (dose media: 0.25 mg/kg PO q24h), 23 pimobendan (dose media: 0.25 mg/kg PO q12h), 4 amlodipina (dose media: 0.1 mg/kg PO q24h), e soltanto uno torasemide (dose iniziale media: 1/10 del precedente dosaggio di furosemide).^{27,30} Oltre agli agenti diuretici, inotropi e vasodilatatori, alcuni cani hanno ricevuto terapie cardiologiche aggiuntive, di cui 2 digossina (dose media: 0.005 mg/kg PO q12h), 2 diltiazem a lento rilascio (dose media: 2 mg/kg PO q12h) ed uno amiodarone (dose di carico media 15 mg/kg PO q24h; dose di mantenimento media: 7.5 mg/kg PO q24h).^{27,31}

Parametri ecocardiografici convenzionali e di danno valvolare

I risultati inerenti le variabili ecocardiografiche convenzionali sono riportati nella Tabelle 2. Come atteso, si può notare un aumento progressivo degli indici di dilatazione e sovraccarico volumetrico atrioventricolare sinistro all'aumentare dello stadio di gravità della patologia, tra cui rapporto AS/Ao, rapporto tra diametro

telediastolico ventricolare sinistro e diametro aortico, MV E vel e rapporto tra onda E ed onda A. Per quanto riguarda invece gli indici ecocardiografici di danno valvolare (Tabella 3), non è stata riscontrata alcuna differenza statistica tra i vari gruppi circa il flail. Risulta invece statisticamente differente la presenza di prolasso valvolare, che appare significativamente più frequente nei gruppi B2 ed S rispetto al gruppo B1 ($P < .001$). Anche la prevalenza della rottura di corde tendinee è apparsa essere differente tra i soggetti appartenenti a classi diverse, essendo presente quasi nella metà dei soggetti appartenenti alle classi scompensate (gruppo S) e solo in una minima parte dei cani inclusi nel gruppo B1 ($P < .05$). Il grado di severità del rigurgito mitralico ha ottenuto dei risultati in linea con i precedenti, incrementando la sua gravità tra lo stadio iniziale della malattia e quello di scompenso, di pari passo con la riduzione di entità più lievi e moderate. Infatti, si evidenzia una gravità maggiore per il gruppo S rispetto al gruppo B1 con una significatività alta ($P < .001$), come pure tra il gruppo B2 rispetto al gruppo B1 ($P < .001$). Non è stata invece individuata alcuna differenza statisticamente rilevante tra i gruppi S e B2.

Le percentuali della direzione del jet di rigurgito, indagato nella sua tridimensionalità, sono riassunte in Figura 1. I nostri risultati mostrano che il 65.5% dei soggetti presentava una direzione laterale del rigurgito nella scansione quattro camere, mentre erano quasi equamente suddivisi nelle tre possibili direzioni nella proiezione due camere. Difatti, la maggior parte degli individui presentava un jet a direzione supero-latero-posteriore (29.2%), supero-latero-anteriore (18.6%) e supero-latero-centrale (17.7%). Più della metà degli individui cui il rigurgito non era incluso nelle sopracitate direzioni, presentava un jet centrale nella scansione quattro camere, che poteva essere centrale anche nella due camere o posteriore (rispettivamente 10.6% jet supero-centro posteriore e 9.7% jet a direzione contro-centrale). L'esigua quota dei cani rimanenti presentava una direzione del jet supero-postero-settale (6.2%), supero-centro-anteriore (5.3%), supero-centro settale (1.8%) ed infine solo un soggetto assumeva una direzione supero-antero-settale (rappresentando lo 0.9% del totale).

Analisi di sopravvivenza

Dei 113 cani inclusi nel presente lavoro di tesi, è stato possibile ottenere

informazioni sulla sopravvivenza in 108 soggetti (96%). Di questi 73 cani erano ancora vivi al momento della conclusione dello studio, con un tempo di follow up medio di 256 giorni. Dei restanti 35 soggetti, 26 cani sono deceduti per causa cardiaca mentre 9 per causa non cardiaca, con un tempo medio di sopravvivenza rispettivamente di 207 giorni e 310 giorni. Le cause di morte non cardiaca sono state varie, tra cui problemi renali non attribuibili alla terapia cardiaca, morbo di Cushing, neoplasie, problemi neurologici, pancreatite e diabete. L'analisi delle curve di Kaplan-Meier sulla base della direzione del jet di rigurgito in scansione apicale quattro camere ha mostrato una sopravvivenza media di 541 giorni per i cani con jet a direzione laterale e di 348 giorni per in cani con jet a direzione centrale. Nessuno dei soggetti con jet a direzione settale è deceduto per morte cardiaca durante il periodo di studio, pertanto non è stato possibile calcolare la sopravvivenza media per questo gruppo di soggetti. Il test log-rank non ha permesso di riscontrare alcuna differenza statistica nei i tempi di sopravvivenza tra gruppi sopracitati (Figura 2).

Discussione

In questo studio è stata effettuata, per la prima volta in medicina veterinaria, un'analisi complessiva delle alterazioni valvolari e delle caratteristiche del rigurgito mitralico in corso di MMVM finalizzata non solo a descriverne in modo accurato la prevalenza in un'ampia popolazione canina, ma anche ad investigare la possibile correlazione esistente tra i suddetti parametri ed il tempo di sopravvivenza dei soggetti affetti. La completezza della nostra ricerca ha reso possibile l'identificazione di alcuni risultati assolutamente innovativi, spunto per numerose riflessioni inerenti fisiopatologia e decorso clinico di tale patologia.

Entrando più nello specifico nella trattazione dei nostri dati, abbiamo innanzitutto identificato un progressivo incremento degli indici dimensionali e di sovraccarico delle camere cardiache sinistre (ad esempio, AS/Ao e MV E vel), oltre ad un aumento dell'entità del rigurgito mitralico, di pari passo con l'aumentare dello stadio di gravità di malattia valvolare. Tale dato riecheggia quanto precedentemente riportato da altri autori^{12-13,32-37} e rispecchia a pieno la natura cronica e progressiva che contraddistingue tale cardiopatia.

Per quanto concerne i parametri ecocardiografici di danno valvolare, merita certamente di essere menzionata la rottura delle corde tendinee, da noi riscontrata raramente nei soggetti appartenenti alla classe B1 (13.5%). Al contrario, tale alterazione è stata identificata in quasi la metà dei soggetti andati incontro a scompenso cardiaco (44% dei pazienti di classe S). Ciò sottolineerebbe dunque che la rottura delle corde rappresenta un reperto tipico degli stadi più avanzati della patologia e, di conseguenza, associato ad un tempo di sopravvivenza più limitato. Tali dati evidenziano dunque il forte valore non solo fisiopatologico, ma anche clinico, attribuibile a questa anomalia valvolare ed appaiono in perfetto accordo con le indagini su base autoptica condotte da Whitney a cavallo degli anni '60 e '70,^{5,38} oltre che con quanto dimostrato più recentemente mediante indagine ecocardiografica da Serres *et coll.*¹³ Secondo quest'ultimo studio, difatti, i cani affetti da MMVM ed evidenza ecocardiografica di anomalie valvolari imputabili a rottura di corde tendinee hanno un tempo di sopravvivenza ridotto, pari solo a 24 mesi nel 75% dei casi.¹³ Sottolineiamo per completezza che l'elevata prevalenza di tale anomalia è stata ulteriormente confermata

anche mediante osservazione diretta in sede intraoperatoria nel corso di interventi di riparazione dell'apparato mitralico in 98 cani affetti da MMVM.³⁹ In tal modo è stato possibile identificare la rottura delle corde tendinee ben nell'81.6% dei casi. Interessante notare come, sia nell'indagine ecocardiografica che in quella intraoperatoria sopra citate, le corde maggiormente interessate da rottura fossero quelle settali (rispettivamente, 96.5% e 74.5%).^{13,39} Anche in medicina umana la rottura spontanea delle corde tendinee rappresenta un'evenienza comune delle patologie mitraliche. Basti pensare che uno studio condotto su 213 pazienti sottoposti a chirurgia valvolare ha rilevato tale anomalia in circa il 75% dei soggetti. Contrariamente a quanto rinvenuto nel cane, però, nell'uomo le corde più frequentemente danneggiate risultano quelle annesse al lembo parietale (circa il 62% dei casi). Va anche notato che sebbene la maggior parte dei pazienti umani che va incontro a rottura spontanea di una o più corde tendinee non presenti inizialmente alcuna sintomatologia, con il passare del tempo si può assistere ad un aumento dello stress sulle residue corde ancora integre, con loro progressiva rottura e conseguente prolasso e flail valvolare. A causa di ciò anche l'entità del rigurgito mitralico diventa via via più severa inducendo un quadro sintomatologico conclamato.⁴⁰ A supporto di quanto detto, Hickey *et coll.* hanno mostrato che i soggetti con maggior numero di corde rotte ed anomalie dell'apparato mitralico nel complesso più avanzate hanno un tempo di sopravvivenza medio di 26 settimane se non trattati chirurgicamente.¹⁷

Altro parametro ecocardiografico da noi indagato è il flail, alterazione tipicamente associata alla rottura delle corde tendinee di maggiori dimensioni. In medicina umana tale anomalia valvolare è considerata uno tra gli indicatori più affidabili di gravità del rigurgito mitralico, rappresenta un importante parametro per la tempestività della chirurgia ed è strettamente associata ad un aumentato rischio di morte improvvisa.¹⁸⁻¹⁹ Una simile importanza prognostica è stata recentemente dimostrata da un gruppo di ricerca inglese anche in corso di MMVM canina.¹² Al contrario, la nostra indagine non ha riscontrato un aumento significativo dell'incidenza del flail con l'avanzare della malattia, contrastando dunque con quanto riportato da Sargent *et coll.* Lo studio appena citato è però di tipo retrospettivo ed includente solamente 70 soggetti con peso minore di 15 kg. Inoltre, va specificato che le proiezioni volte a valutare la presenza del flail erano rappresentate solo dalla parasternale destra asse lungo quattro

camere e dalla apicale quattro camere. La presente ricerca è stata invece di tipo prospettico, ha incluso 113 pazienti con un peso ≤ 20 kg e si è basata sull'analisi combinata di molteplici scansioni ecocardiografiche (oltre alle due convenzionali già citate, anche la parasternale destra asse lungo cinque camere e la apicale due camere). Tutte queste differenze potrebbero aver giocato un ruolo nell'identificazione del flail e nella successiva analisi statistica. Va infine considerato che, a differenza di altre variabili ecocardiografiche contraddistinte da una quantificazione numerica, il flail può risentire di una certa variabilità correlata sia allo strumento ecocardiografico impiegato sia all'esperienza dell'operatore.^{12,41}

Parallelamente alla rottura delle corde tendinee ed al flail, la nostra indagine ha prestato particolare attenzione anche al prolasso valvolare. Come noto, tale reperto rappresenta una delle alterazioni più comuni e precoci in corso di MMVM e la sua prevalenza sembrerebbe aumentare con l'avanzare della malattia.¹⁰ Nello specifico, nel 1999 Pedersen *et coll.* evidenziarono una correlazione positiva tra il grado di prolasso valvolare e l'aumento del diametro atriale e ventricolare sinistro, oltre ad una correlazione tra l'avanzare del grado del prolasso e la severità del rigurgito mitralico.¹⁰ I dati ottenuti dall'analisi qui presentata appaiono in linea con quanto già dimostrato e sottolineano un'elevatissima prevalenza di tale alterazione soprattutto nei soggetti con malattia in stadio avanzato, ovvero in tutti quei cani in cui la patologia valvolare si associa ad un certo grado di rimodellamento miocardico (la prevalenza di prolasso nei soggetti appartenenti alle classi B2 e S va dal 90 al 100%). Si può quindi affermare che i pazienti ove sia riscontrato prolasso della valvola mitralica presentano un outcome peggiore rispetto ai soggetti affetti da MMVM ma scevri da tale difetto.

Per quanto riguarda infine le caratteristiche del rigurgito valvolare, studi condotti in ambito umano mostrano come l'entità del jet rigurgitante possa essere impiegata per diagnosticare il grado del prolasso valvolare. Infatti, l'area dove è possibile visualizzare il rigurgito spesso coincide con il sito del lembo soggetto a prolasso. La corretta identificazione dell'origine del jet valvolare e della direzione assunta all'interno dell'atrio sinistro nei pazienti con prolasso è di fondamentale importanza per ricavare utili informazioni circa quale porzione di lembo sia danneggiata, oltre che per decidere la tipologia di intervento ricostruttivo valvolare. Infatti, nel caso di prolasso di alcune porzioni è fortemente indicato l'intervento, mentre per altre può essere addirittura

controindicato.²¹ Nel presente lavoro abbiamo descritto in modo dettagliato, per la prima volta in cani affetti da MMVM, la prevalenza di differenti direzioni del jet rigurgitante mostrando che circa un terzo dei jet si dirige in senso (supero-)latero-posteriore. Si è dunque cercato anche di capire se la direzione del jet abbia un impatto prognostico. Purtroppo però l'esiguo numero di casi con jet a direzione settale non ha permesso di rendere efficace l'analisi statistica che, peraltro, sempre per questioni numeriche, è stata condotta esclusivamente sui dati raccolti in scansione apicale quattro camere. Dal grafico di Kaplan-Meier (Figura 2) è comunque possibile notare che, pur non raggiungendo differenza statistica, i cani con jet a direzione settale tendono a vivere di più degli altri. Questo aspetto intrigante può far ipotizzare che, in effetti, nel cane alcune direzioni del jet si associno a decorsi della malattia più benigni; tuttavia, dati più estesi e follow-up più prolungati sono necessari per supportare questa ipotesi.

Il presente progetto di ricerca presenta alcune limitazioni. Innanzi tutto molti dei cani inclusi nel nostro studio erano asintomatici al momento della visita cardiologica (ben il 78% di essi era appartenente alle classi B1 e B2). Ciò inevitabilmente può aver influenzato non solo la prevalenza assoluta di specifiche alterazioni ecocardiografiche che notoriamente si manifestano con maggior frequenza negli stadi più avanzati della patologia (ad esempio, rottura delle corde tendinee, prolasso e flail valvolare), ma anche l'analisi di sopravvivenza. D'altro canto tale categoria di pazienti rappresenta statisticamente la fetta più numerosa di quelli affetti e quotidianamente gestiti nella pratica clinica ambulatoriale.³²⁻³³ E' stato difatti nostro intento quello di analizzare un gruppo di studio quanto più rappresentativo della popolazione canina tipicamente affetta da MMVM. Altro limite riguarda il follow-up effettuato dal momento dell'inclusione all'intervista telefonica; questo per l'appunto è stato altamente variabile oscillando da meno di 30 giorni fino a diversi anni. Tale limitazione è tuttavia intrinsecamente correlata alla natura prospettica del nostro studio oltre che alle tempistiche di arruolamento e conclusione del progetto di ricerca e rappresenta un limite comune alla maggior parte degli studi strutturati in modo analogo.³²⁻³³ Ulteriore limitazione riguarda la determinazione del survival time e delle cause di morte. Difatti la nostra analisi si è basata sul giudizio assolutamente soggettivo dei proprietari, a volte non in grado di ricordare con esattezza il giorno del decesso o di riconoscere con precisione se si trattasse di un evento cardiogeno o meno. Anche tale limitazione va però considerata

come inevitabile in un progetto di ricerca di questa natura e rappresenta difatti un bias di diversi autorevoli studi di simile struttura.³²⁻³³

Conclusioni

In conclusione, nel presente progetto di ricerca è stato dimostrato che la valutazione ecocardiografica di specifici indici inerenti il jet rigurgitante e danno valvolare rappresenta un tassello di fondamentale importanza ai fini di una corretta valutazione dei cani affetti da MMVM, oltre a fornire indicazioni utili circa l'evoluzione e potenzialmente la prognosi della malattia. Inoltre, i nostri risultati assumono ancor più rilevanza se inseriti nel contesto cardiocirurgico. Va difatti considerato che le informazioni da noi ottenute potrebbero rivelarsi particolarmente utili nel caso in cui, un giorno, la correzione chirurgica valvolare, al momento effettuata con buon margine di successo principalmente in Giappone⁴²⁻⁴³ e Stati Uniti,⁴⁴⁻⁴⁵ diventi un'alternativa terapeutica ad ampia diffusione anche nello scenario veterinario europeo.

Figure e tabelle

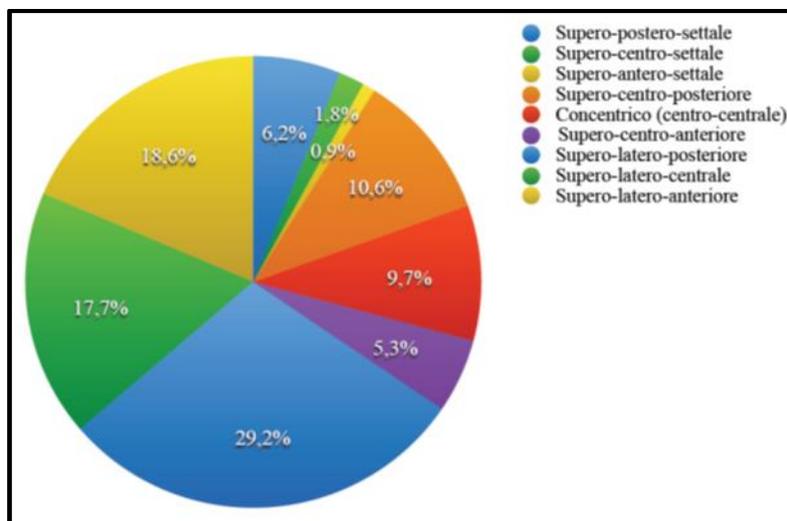


Figura 1. Grafico raffigurante la prevalenza del jet di rigurgito mitralico nella popolazione oggetto di studio. Si noti la frequenza con cui sono stati identificati jet a direzione supero-latero-posteriore (29.2%), seguiti da quelli diretti supero-latero-anteriormente (18.6%) e supero-latero-centralmente (17.7%). Meno frequenti risultano i jet a direzione supero-centro-posteriore (10.6%), concentrico (centro-centrale) (9.7%), supero-postero-settale (6.2%) e supero-centro-anteriore (5.3%). Rarissimi infine i jet a direzione supero-centro-settale (1,8%) e supero-antero-settale (0.9%).

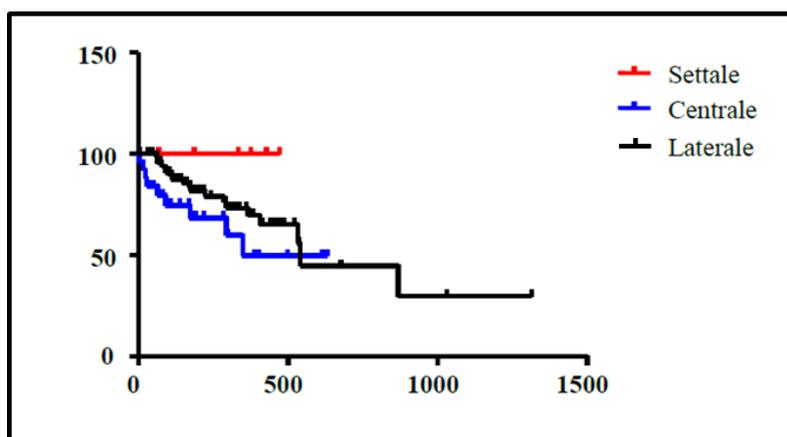


Figura 2. Grafico raffigurante la percentuale di sopravvivenza espressa in giorni in base alla direzione del jet di rigurgito mitralico visualizzato nella scansione apicale quattro camere nella popolazione oggetto di studio (in media, 541 giorni per i cani con jet laterale e 348 giorni per quelli con jet centrale; nessuno dei soggetti con jet a direzione settale è deceduto per morte cardiaca durante il periodo di studio).

Variabile	Totali	B1	B2	S
N. di cani	113	37	51	25
Età (anni)	11 ± 0.3	8.6 ± 4.5	11.2 ± 2.5	7.8 ± 3.5
Peso (kg)	8.5 ± 3.9	10 ± 3.8	8.9 ± 3.8	11.9 ± 2
Sesso (M/F)	58/55	23/14	24/27	11/14
Sesso (c/s)	12/38	4/10	5/18	3/10
Razza (n. di cani)	Meticci (60)	Meticci (16)	Meticci (32)	Meticci (12)
	CKCS, Barboncino (9)	Barboncino (5)	CKCS (5)	Barboncino (3)
	Maltese (6)	Maltese (3)	Bassotto Tedesco (3)	CKCS, Yorkshire Terrier (2)
	Bassotto Tedesco (5)	CKCS, Bolognese, Pinscher (2)	Maltese (2)	
	Pinscher, Yorkshire Terrier (4)	Altre razze (7)	Altre razze (9)	Altre razze (6)
	Bolognese (3)			
	Cocker Spaniel, Volpino di Pomerania, Beagle, Shih-Tzu (2)			
	Piccolo Levriero Italiano, Jack Russel Terrier, Chihuahua, Setter Inglese, Border Collie (1)			

Tabella 1. Variabili demografiche della popolazione oggetto di studio. B1: cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica (MMVM) in assenza di rimodellamento miocardico; B2: cani affetti da MMVM con rimodellamento miocardico ma compensati; S: cani affetti da MMVM esitata in insufficienza cardiaca congestizia; M: maschi; F: femmine; c: castrati; s: sterilizzate; CKCS: Cavalier King Charles Spaniel.

Variabile	Totali (113)	B1 (37)	B (51)	S (25)
FS	41.02 ± 9.8	40.16 ± 11.6	40.29 ± 9.7	44 ± 6.2
LA (cm)	28.57 ± 8.5	21.24 ± 4	31 ± 6.7	34.64 ± 9.2
Ao (cm)	15.75 ± 3.1	15.54 ± 2.8	16.22 ± 3.3	15.16 ± 3
AS/Ao	1.82 ± 0.4	1.37 ± 0.1	1.93 ± 0.3	2.28 ± 0.3
LVIDd/Ao	1.81 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.86 ± 0.3	2.11 ± 0.2
MV E vel (cm/s)	101.45 ± 35.1	74.54 ± 15.1	106.34 ± 32.2	132.04 ± 33.8
MV A vel (cm/s)	78.5 ± 26.1	70.81 ± 21.6	82.22 ± 24.9	84.39 ± 32.5
MV E/A	1.44 ± 1.1	1.11 ± 0.3	1.55 ± 1.5	1.69 ± 0.6
DTE (m/s)	108.05 ± 51.5	94.11 ± 21.6	105.74 ± 22.7	134.04 ± 96.1
RIG TRIC (cm/s)	266.28 ± 56.8	238.66 ± 40.6	270.28 ± 47.3	293 ± 73
RIG MITR (cm/s)	559.76 ± 62.9	575.56 ± 56.9	568.06 ± 62	523.56 ± 61.3

Tabella 2. Variabili ecocardiografiche convenzionali nel totale dei cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica (MMVM) e nei diversi gruppi (B1, B2, S). B1: cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica (MMVM) in assenza di rimodellamento miocardico; B2: cani affetti da MMVM con rimodellamento miocardico ma compensati; S: cani affetti da MMVM esitata in scompenso cardiaco congestizio; FS: frazione d'accorciamento; LA: atrio sinistro; Ao: aorta; AS/Ao: rapporto tra diametro atriale sinistro e diametro aortico; LVIDs/Ao: rapporto tra diametro telediastolico ventricolare sinistro e diametro aortico; MV E vel: velocità di picco dell'onda mitralica diastolica precoce E; MV A vel: velocità di picco dell'onda mitralica diastolica tardiva A; MV E/A: rapporto tra onda E ed onda A; DTE: tempo di decelerazione dell'onda E; RIG TRIC: velocità di picco del rigurgito tricuspidalico; RIG MITR: velocità di picco del rigurgito mitralico.

Variabile	Totali (113)	B1 (37)	B2 (51)	S (25)	P value complessivo
Lembo affetto	Lat (0) Set (11) Lat+Set (102)	Lat (0) Set (7) Lat+Set (30)	Lat (0) Set (4) Lat+Set (47)	Lat (0) Set (0) Lat+Set (25)	NA
Prolasso (+)	88/113 (77.9%)	17/37 (45.9%)	46/51 (90.2%)***	25/25 (100%)***	<i>P</i> < .001
Rottura corde (+)	27/113 (23.9%)	5/37 (13.5%)	11/51 (21.6%)	11/25 (44%)*	<i>P</i> < .05
Flail (+)	8/113 (7.1%)	1/37 (2.7%)	5/51 (9.8%)	2/25 (8%)	<i>P</i> > .05
Gravità jet di rigurgito	Lieve 33/113 (29.2%) Moderato 51/113 (45.1%) Grave 29/113 (25.7%)	Lieve 26/37 (70.3%) Moderato 11/37 (29.7%) Grave 0/37 (0%)	Lieve 7/51 (13.7%) Moderato 29/51 (56.9%) Grave 15/51 (29.4%) }***	Lieve 0/25 (0%) Moderato 11/25 (44%) Grave 14/25 (56%) }***	<i>P</i> < .001
Direzione rigurgito in apicale quattro camere	Centrale (29/113) (25.7%) Settale (10/113) (8.8%) Laterale (74/113) (65.5%)	Centrale 14/37 (37.8%) Settale 7/37 (18.9%) Laterale 16/37 (43.2%)	Centrale 11/51 (21.6%) Settale 2/51 (3.9%) Laterale 38/51 (74.5%)	Centrale 8/25 (32%) Settale 1/25 (4%) Laterale 16/25 (64%)	NA
Direzione rigurgito in apicale due camere	Centrale (33/113) (29.2%) Posteriore (52/113) (46%) Anteriore (28/113) (24.8%)	Centrale 11/37 (29.7%) Posteriore 17/37 (45.9%) Anteriore 9/37 (24.3%)	Centrale 13/51 (25.5%) Posteriore 27/51 (52.9%) Anteriore 11/51 (21.6%)	Centrale 9/25 (36%) Posteriore 8/25 (32%) Anteriore 8/25 (32%)	NA

Tabella 3. Variabili ecocardiografiche dell'apparato mitralico nel totale dei cani affetti da malattia mixomatosa della valvola mitralica (MMVM) e nei diversi gruppi (B1, B2, S). I valori in grassetto hanno una differenza statistica espressa dai seguenti simboli:

**P* < .05 rispetto a B1.

****P* < .001 rispetto a B1.

Lat: lembo laterale; set: lembo settale; lat + set: laterale e settale. NA: non applicabile.

Bibliografia

1. Arts T, Meerbaum S, Reneman R, et al. Stresses in the closed mitral valve: a model study. *J Biomech*, 1983;16:539-547.
2. Fox PR. Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. *J Vet Cardiol* 2012;14:103-126.
3. Menciotti G, Borgarelli M, Aherne M, et al. Assessment of mitral valve morphology using three-dimensional echocardiography. Feasibility and reference values. *J Vet Cardiol* 2016;18:156-167.
4. Borgarelli M, Tursi M, La Rosa G, et al. Anatomic, histologic, and two-dimensional-echocardiographic evaluation of mitral valve anatomy in dogs. *Am J Vet Res* 2011;72:1186-92.
5. Pomerance A, Whitney JC. Heart valve changes common to man and dog: a comparative study. *Cardiovasc Res* 1970;4:61-66.
6. Corcoran BM, Black A, Anderson H, et al. Identification of surface morphologic changes in the mitral valve leaflets and chordae tendineae of dogs with myxomatous degeneration. *Am J Vet Res* 2004;65:198-206.
7. Menciotti G, Borgarelli M, Aherne M, et al. Mitral valve morphology assessed by three-dimensional transthoracic echocardiography in healthy dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2017; doi: 10.1016/j.jvc.2017.01.002 [Epub ahead of print].
8. Pedersen HD, Kristensen BØ, Lorentzen KA, et al. Occurrence of mitral valve prolapse in chronic valvular disease in dogs. 4th Annual Congress of the European College of Veterinary Internal Medicine, Brussels, 9-11 settembre 1994.
9. Pedersen HD, Kristensen BØ, Nørby B, et al. Echocardiographic study of mitral valve prolapse in dachshunds. *Zentralbl Veterinarmed A* 1996;43:103-110.
10. Pedersen HD, Lorentzen KA, Kristensen BØ. Echocardiographic mitral valve prolapse in cavalier King Charles spaniels: epidemiology and prognostic significance for regurgitation. *Vet Rec* 1999;144:315-320.

11. Olsen LH, Martinussen T, Pedersen HD. Early echocardiographic predictors of myxomatous mitral valve disease in dachshunds. *Vet Rec* 2003;152:293-297.
12. Sargent J, Muzzi R, Mukherjee R, et al. Echocardiographic predictors of survival in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2015;17:1-12.
13. Serres F, Chetboul V, Tissier R, et al. Chordae tendineae rupture in dogs with degenerative mitral valve disease: prevalence, survival, and prognostic factors (114 cases, 2001-2006). *J Vet Intern Med* 2007;21:258-264.
14. Gouni V, Serres FJ, Pouchelon JL, et al. Quantification of mitral valve regurgitation in dogs with degenerative mitral valve disease by use of the proximal isovelocity surface area method. *J Am Vet Med Assoc* 2007;231:399-406.
15. Chetboul V, Serres F, Tissier R, et al. Association of plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration with mitral regurgitation severity and outcome in dogs with asymptomatic degenerative mitral valve disease. *J Vet Intern Med*, 2009;23:984-994.
16. Serres F, Pouchelon JL, Poujol L, et al. Plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration helps to predict survival in dogs with symptomatic degenerative mitral valve disease regardless of and in combination with the initial clinical status at admission. *J Vet Cardiol* 2009;11:103-121.
17. Hickey AJ, Wilcken DE, Wright JS, et al. Primary (spontaneous) chordal rupture: relation to myxomatous valve disease and mitral valve prolapse. *J Am Coll Cardiol* 1985;5:1341-1346.
18. Ling LH, Enriquez-Sarano M, Seward JB, et al. Early surgery in patients with mitral regurgitation due to flail leaflets: a long-term outcome study. *Circulation* 1997;96:1819-1825.
19. Grigioni F, Enriquez-Sarano M, Ling LH, et al. Sudden death in mitral regurgitation due to flail leaflet. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:2078-2085.

20. Enriquez-Sarano M, Avierinos JF, Messika-Zeitoun D, et al. Quantitative determinants of the outcome of asymptomatic mitral regurgitation. *N Engl J Med* 2005;352:8758-8783.
21. Yoshida K, Yoshikawa J, Yamaura Y, et al. Value of acceleration flows and regurgitant jet direction by Color Doppler flow mapping in the evaluation of mitral valve prolapse. *Circulation* 1990;81:879-885.
22. Gurney JW, Goodman LR. Pulmonary edema localized in the right upper lobe accompanying mitral regurgitation. *Radiology* 1989;171:397-399.
23. Roach JM, Stajduhar KC, Torrington KG. Right upper lobe pulmonary edema caused by acute mitral regurgitation. Diagnosis by transesophageal echocardiography. *Chest* 1993;103:1286-1288.
24. Schnyder PA, Sarraj AM, Duvoisin BE, et al. Pulmonary edema associated with mitral regurgitation: prevalence of predominant involvement of the right upper lobe. *Am J Roentgenol* 1993;161:33-36.
25. Chen JC, Bullard MJ, Cherng WJ, et al. Mitral regurgitation presenting as localised right middle lobe pulmonary oedema. *J Accid Emerg Med* 1999;16:72-73.
26. Diana A, Guglielmini C, Pivetta M, et al. Radiographic features of cardiogenic pulmonary edema in dogs with mitral regurgitation: 61 cases (1998-2007). *J Am Vet Med Assoc* 2009;235:1058-1063.
27. Brown S, Atkins C, Bagley R, et al. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2007;21:542-558.
28. Kraus MS, Moïse NS, Rishniw M, et al. Morphology of ventricular arrhythmias in the boxer as measured by 12-lead electrocardiography with pace-mapping comparison. *J Vet Intern Med* 2002;16:153-158.
29. Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J Vet Intern Med* 2009;23:1142-1150.
30. Peddle GD, Singletary GE, Reynolds CA, et al. Effect of torsemide and furosemide on clinical, laboratory, radiographic and quality of life variables

in dogs with heart failure secondary to mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:253-259.

31. DeFrancesco TC. Management of cardiac emergencies in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2013;43:817-842.
32. Borgarelli M, Savarino P, Crosara S, et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *J Vet Intern Med* 2008;22:120-128.
33. Borgarelli M, Crosara S, Lamb K, et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with preclinical chronic degenerative mitral valve disease attributable to myxomatous degeneration. *J Vet Intern Med* 2012;26:69-75.
34. Moonarmart W, Boswood A, Luis Fuentes V, et al. N-terminal pro B-type natriuretic peptide and left ventricular diameter independently predict mortality in dogs with mitral valve disease. *J Small Anim Pract* 2010;51:84-96.
35. Hezzell MJ, Boswood A, Moonarmart W et al. Selected echocardiographic variables change more rapidly in dogs that die from myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:269-279.
36. Borgarelli M, Abbott J, Braz-Ruivo L, et al. Prevalence and prognostic importance of pulmonary hypertension in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2015;29:569-574.
37. Baron Toaldo M, Romito G, Guglielmini, et al. Assessment of left atrial deformation and function using two-dimensional speckle tracking echocardiography in healthy dogs and in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2016;30:368.
38. Whitney JC. Observation on the effect of age on the severity of heart valve lesions in the dogs. *J Small Anim Pract* 1974;15:511-522.
39. Mizuno T, Katagiri H, Mizuno M, et al. Macroscopic evaluation of the mitral valve chordae tendineae during mitral valve repair. 24th Annual Congress of the European College of Veterinary Internal Medicine, Mainz, 4-6 settembre 2014.

40. Oliveira DB, Dawkins KD, Kay PH, et al. Chordal rupture. I: aetiology and natural history. *Br Heart J* 1983;50:312-317.
41. Chetboul V, Tissier R. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:127-148.
42. Uechi M, Mizukoshi T, Mizuno T, et al. Mitral valve repair under cardiopulmonary bypass in small-breed dogs: 48 cases (2006-2009). *J Am Vet Med Assoc* 2012 15;240:1194-1201.
43. Mizuno T, Mizukoshi T, Uechi M. Long-term outcome in dogs undergoing mitral valve repair with suture annuloplasty and chordae tendinae replacement. *J Small Anim Pract* 2013;54:104-107.
44. Griffiths LG, Orton EC, Boon JA. Evaluation of techniques and outcomes of mitral valve repair in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2004;224:1941-1945.
45. Orton EC, Hackett TB, Mama K, et al. Technique and outcome of mitral valve replacement in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2005;226:1508-1511.