

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

Scienze Mediche Generali e dei Servizi - Progetto n°4:
Ultrasonologia in Medicina Umana e Veterinaria

Ciclo XXV

Settore scientifico-disciplinare di afferenza:

Clinica Medica Veterinaria (VET/08)

UTILIZZO DEI PARAMETRI ECOCARDIOGRAFICI
TRADIZIONALI ED
A DOPPLER TISSUTALE
NELLA VALUTAZIONE DELLA DISFUNZIONE
ATRIO-VENTRICOLARE IN CANI AFFETTI DA MALATTIA
MITRALICA CRONICA

Presentata da: dott.ssa GIORGIA SGRECCIA

Coordinatore Dottorato

BOLONDI prof. LUIGI

Relatore

CIPONE prof. MARIO

Esame finale anno 2013

INDICE

PARTE GENERALE

Introduzione.....	1
-------------------	---

CAPITOLO 1 - LA MALATTIA DEGENERATIVA MITRALICA

1.1 Introduzione.....	4
1.2 La valvola mitralica.....	4
1.3 Malattia mitralica cronica.....	6
1.4 Ruolo dell'ecocardiografia.....	8
1.5 Classificazione dei pazienti affetti da malattia degenerativa mitralica.....	10
1.6 Terapia.....	11
1.7 Eventi associati.....	13
1.8 L'ipertensione polmonare nella malattia degenerativa mitralica.....	14

CAPITOLO 2 - TECNICHE AVANZATE DI ECOCARDIOGRAFIA:

TISSUE DOPPLER IMAGING

2.1 Principi del Doppler tissutale.....	17
2.2 Modalità a Doppler Pulsato (PW-TDI).....	18
2.3 Modalità 2D a codice di colore (color TDI).....	19
2.4 Modalità Doppler M-mode.....	20
2.5 Strain e Strain Rate TDI-derivati.....	22
2.6 Applicazioni cliniche di ϵ e SR ventricolari.....	26
2.7 Limiti degli indici di deformazione TDI derivati.....	28
2.8 Speckle Tracking 2D.....	30

PARTE SPERIMENTALE

CAPITOLO 3 - PROGETTO 1: VALUTAZIONE ECOCARDIOGRAFICA DELLA DISFUNZIONE DEL VENTRICOLO DESTRO IN CANI CON INSUFFICIENZA CARDIACA SECONDARIA A MALATTIA MITRALICA CRONICA

IL VENTRICOLO DESTRO.....	34
3.1 Introduzione.....	34
3.2 Anatomia del ventricolo destro.....	35
3.3 Fisiologia del ventricolo destro.....	39
3.3.1 Introduzione.....	39
3.3.2 Aspetti meccanici della contrazione del ventricolo destro.....	40
3.3.3 Aspetti emodinamici della contrazione del ventricolo destro.....	40
3.4 Fisiopatologia del ventricolo destro.....	42
3.5 Il fenomeno dell'interdipendenza ventricolare.....	44
3.6 Ruolo dell'ecocardiografia nella valutazione del ventricolo destro.....	46
3.7 Valutazione morfofunzionale del ventricolo destro mediante ecocardiografia 2D.....	47
3.8 Valutazione funzionale del ventricolo destro mediante metodica Doppler tradizionale.....	49
3.8.1 Flusso transtricuspidalico.....	49
3.9 Interpretazione dei profili delle velocità ottenuti mediante metodica TDI.....	52
3.10 MATERIALI E METODI.....	54
3.11 RISULTATI.....	62
3.12 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	74

CAPITOLO 4 - PROGETTO 2: UTILIZZO DELL'ECOCARDIOGRAFIA A DOPPLER TISSUTALE (TDI) NELLO STUDIO DELLA DEFORMAZIONE DELL'ATRIO SINISTRO IN UNA POPOLAZIONE DI CANI SANI ED AFFETTI DA MALATTIA MITRALICA CRONICA

4.1 Anatomia dell'atrio sinistro.....	82
4.2 Anatomia del sistema di conduzione ed attivazione elettrica atriale.....	83
4.3 Fisiologia cardiaca.....	86
4.4 Fisiologia dell'atrio sinistro.....	89
4.5 Valutazione ecocardiografica dell'atrio sinistro.....	90
4.6 Determinazione delle dimensioni dell'atrio sinistro.....	90
4.7 Nuove tecniche ecocardiografiche.....	93
4.8 Applicazioni cliniche degli indici TDI derivati atriali.....	94
4.9 MATERIALI E METODI.....	102
4.10 RISULTATI.....	110
4.11 DISCUSSIONI E CONCLUSIONI.....	124
BIBLIOGRAFIA.....	131

PARTE GENERALE

INTRODUZIONE

In questo lavoro ci siamo posti come obiettivo lo studio della disfunzione atrio-ventricolare mediante nuove tecniche ecocardiografiche in cani affetti da malattia degenerativa mitralica cronica, una delle più importanti patologie cardiovascolari dei piccoli animali.

Una prima parte del presente lavoro è volta alla valutazione della funzionalità diastolica del ventricolo destro. L'interesse di tale analisi è nato dal fatto che si è osservato nell'uomo che alcuni parametri indicativi di disfunzione del ventricolo destro possono rappresentare degli utili indicatori prognostici in corso d'insufficienza cardiaca sinistra. I due ventricoli infatti sono altamente interdipendenti tra di loro, poiché condividono intimamente numerosi fasci muscolari miocardici e perché sono avvolti da una struttura scarsamente elastica che li contiene, rappresentata dal sacco pericardico. Un'alterazione volumetrica di un ventricolo si ripercuoterà direttamente sulla funzione dell'altro, per il meccanismo dell'interdipendenza ventricolare.

Pertanto ci siamo proposti di analizzare la funzione del ventricolo destro in cani affetti da malattia del cuore sinistro per comprendere se quest'ultima possa condizionare direttamente la performance del settore cardiaco contro laterale.

Nel secondo studio abbiamo invece impiegato l'ecocardiografia a Doppler tissutale per l'analisi della funzione sisto-diastolica dell'atrio sinistro. Questo lavoro è articolato in una parte di validazione della metodica su cani normali ed una su animali affetti da malattia mitralica cronica. Il rationale di questo studio nasce dalla necessità di analizzare in modo approfondito la disfunzione atriale sinistra, al fine di ottenere parametri più attendibili ed approfonditi di quanto viene normalmente ricavato da un'ecocardiografia tradizionale. Mentre nell'uomo alcuni studi di questo tipo sono stati recentemente pubblicati sia su pazienti sani che affetti da svariate malattie cardiache, per il momento non è presente in letteratura

alcuna pubblicazione sull'impiego del Doppler tissutale per l'analisi della cinetica dell'atrio sinistro nei cani.

CAPITOLO 1: LA MALATTIA DEGENERATIVA MITRALICA NEL CANE

1.1 Introduzione

Nel primo capitolo si fa cenno all'anatomia ed alla funzione della valvola mitralica e verranno trattati i punti fondamentali e le nuove acquisizioni di una delle patologie cardiovascolari più comuni in medicina veterinaria, la malattia mitralica cronica. Essa rappresenta, infatti, approssimativamente il 75 % delle malattie cardiovascolari osservate nel cane (*Kittleson M. D. e Kienle R. D., 1998*). Si farà riferimento, inoltre, alle ripercussioni della patologia sul comparto destro del cuore e sulla circolazione polmonare.

1.2 La valvola mitralica

La valvola mitralica è formata da cinque componenti (l'anulus, le due cuspidi, le commessure, le corde tendinee ed i muscoli papillari) che vanno insieme a costituire l'apparato mitralico (Hurst, 2005).

La variabilità anatomica di questi elementi è stata dimostrata essere, sia in medicina umana che veterinaria, estremamente alta (Borgarelli et al, 2011). L'anulus rappresenta il supporto fibroso delle cuspidi. Nell'uomo ha solitamente una forma a D, mentre nelle diverse razze canine varia dall'aver una forma quasi circolare ad una forma quasi ellittica (Borgarelli et al, 2004).

Le cuspidi prendono il nome di settale, la più estesa e robusta (anteriore nell'uomo), e parietale (posteriore nell'uomo) (Barone, 2003).

Nel cane, le due cuspidi hanno un'area di dimensioni simili, avendo la cuspidi settale un'altezza doppia rispetto alla parietale ma una superficie d'attacco all'anulus molto più limitata (figura 1.1) (Borgarelli et al, 2011).

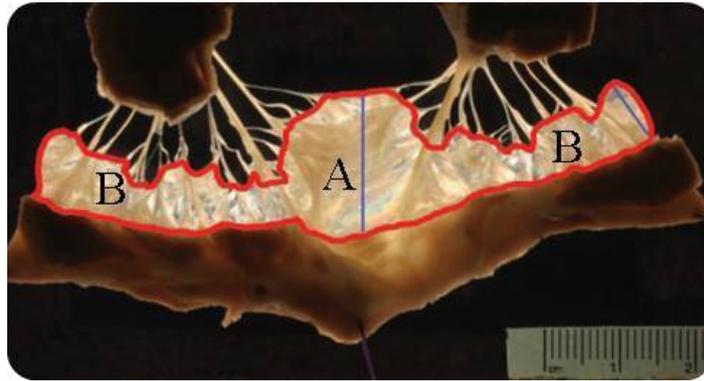


Figura 1.1 Valvola mitrale normale di cane; A: cuspidi settale; B: cuspidi parietale, incisa. In blu sono state tracciate le altezze delle due cuspidi. Da Borgarelli et al, 2011 modificata.

Le corde tendinee e i muscoli papillari rappresentano l'apparato tensore della valvola.

Dal punto di vista istologico, le cuspidi valvolari presentano un aspetto stratificato. Lo strato centrale (fibroso) è composto da fibre collagene che corrono parallele alla superficie della valvola e si continuano poi nelle corde tendinee. Sul lato atriale della fibrosa è presente una quantità variabile di tessuto connettivo lasso (spongiosa). Un sottile strato fibroelastico copre poi circa due terzi della lunghezza di entrambe le facce delle cuspidi, mentre lo strato più superficiale è costituito da endotelio. Fibre muscolari cardiache e vasi ematici possono estendersi, nel cane, nel terzo prossimale e medio della faccia atriale delle cuspidi, con un'ampia variabilità da soggetto a soggetto. S'ipotizza che questa diversa predominanza dei vari strati possa rappresentare un fattore predisponente all'insorgenza di insufficienza mitralica (Borgarelli et al, 2011).

Studi istologici hanno permesso di individuare all'interno delle cuspidi mitraliche di molte specie un denso plesso nervoso, che sembra possieda una funzione sensitiva o motoria. Nel cane, la maggior parte di queste fibre nervose sono connesse al miocardio alla base della valvola e sono di tipo simpatico (Culshaw et al, 2010).

Recentemente sono stati rinvenuti nelle valvole mitraliche di cani sani tessuto di tipo mixomatoso sparso e cellule infiammatorie (Borgarelli et al, 2011). E' probabile che continui stress sulla valvola creino situazioni di

danno e riparazione continue, con una diversa tollerabilità di queste da soggetto a soggetto (Borgarelli, Seminario internazionale Sicarv, 2011).

Per quanto riguarda la sua funzione, l'apparato mitralico è deputato a prevenire il reflusso di sangue dal ventricolo all'atrio sinistro durante la sistole, e a permettere al flusso sanguigno di transitare durante la diastole dall'atrio al ventricolo senza dare origine a resistenze significative.

I fattori che portano alla chiusura della valvola mitrale sono ancora poco chiari. Si sa però che la chiusura della valvola rappresenta l'evento finale di una complessa interazione tra strutture anatomiche e funzionali quali la contrazione atriale, il movimento dell'anulus mitralico, le cuspidi valvolari, i muscoli papillari, le corde tendinee, la funzione e la geometria ventricolare.

1.3 Malattia mitralica cronica

La malattia mitralica cronica del cane è una patologia acquisita che interessa quindi una bassa percentuale di soggetti in giovane età, mentre se si considera la popolazione di cani con età superiore ai 16 anni la percentuale sale al 75%. Tutte le razze ne possono essere affette, ma la prevalenza è molto più alta nei cani di taglia piccola e media e sembra che alcune razze, come il Cavalier King Charles Spaniel, siano geneticamente predisposte a tale malattia (Olsen et al, 2011).

E' è stato ipotizzato che alla base della patologia vi sia un disturbo primario del metabolismo del collagene e della matrice extracellulare; in particolare è stato evidenziato un accumulo patologico di proteoglicani, responsabile di una serie di alterazioni strutturali che coinvolgono in primo luogo cuspidi valvolari e corde tendinee.

Macroscopicamente, le cuspidi mitraliche presentano un diverso grado d'ispessimento fibro-edematoso, mentre a livello microscopico la spongiosa delle cuspidi mostra un accumulo di mucopolisaccaridi acidi e acqua e una proliferazione di fibroblasti; la fibrosa invece va incontro a un'atrofia dei fasci collagene (Marcato, 2008).

Tale difetto porterebbe ad un movimento anomalo della valvola e ad un conseguente aggravarsi delle sue alterazioni strutturali dovuto al continuo stress meccanico. Un ruolo fondamentale per l'instaurarsi di questo circolo vizioso sembrerebbe esser giocato dalle lesioni endoteliali, dall'espressione dei recettori della serotonina e dalle molecole di segnale della matrice extracellulare (Olsen et al, 2011).

Il malfunzionamento dell'apparato mitralico esita in un'insufficienza valvolare (rigurgito), per cui parte del volume d'eiezione del ventricolo sinistro torna in atrio sinistro (Abbott, 2008).

Con la progressione delle lesioni valvolari ed il peggioramento della quota di insufficienza mitralica, vengono attivati una serie di meccanismi compensatori fra cui il sistema nervoso simpatico, il sistema renina-angiotensina-aldosterone e l'azione dell'ormone antidiuretico, che contribuiscono a mantenere un adeguato volume sistolico anterogrado (Olsen et al, 2011).

Il ventricolo sinistro compensa la perdita del volume sistolico anterogrado aumentando il volume telediastolico, quindi il precarico, mentre la frequenza cardiaca, di solito, non viene influenzata fino agli stadi avanzati dalla malattia. L'aumento del precarico, infatti, migliora la forza di contrazione per il meccanismo di Frank-Starling, secondo il quale il muscolo cardiaco regola la forza della sua contrazione in relazione alla quantità di sangue presente nel ventricolo alla fine della diastole (Komamura et al, 1993).

La resistenza allo svuotamento ventricolare è ridotta, poiché il sangue è eiettato sia in aorta che in atrio sinistro. Questi meccanismi determinano un'ipercinesia del ventricolo sinistro (Olsen et al, 2011).

Tuttavia, a causa del sovraccarico di volume cronico e della conseguente ipertrofia eccentrica patologica, la contrattilità miocardica diminuisce progressivamente anche nei cani compensati (Urabe et al, 1992).

L'aumento progressivo della pressione atriale sinistra, dipendente dalle dimensioni interne e dalla *compliance* delle sue pareti, porta a congestione venosa polmonare e, col tempo, a edema polmonare. Se il rigurgito

mitralico aumenta in maniera repentina, situazione che si può avere in seguito alla rottura di una corda tendinea, questo meccanismo si attua molto più rapidamente (Olsen et al, 2011).

Nel 32,5% dei cani affetti dalla patologia, anche la valvola tricuspide è coinvolta dallo stesso tipo di degenerazione (Atkins et al, 2009).

In questa evenienza, la funzionalità del ventricolo destro, che potrebbe essere già compromessa per il fenomeno dell'interdipendenza ventricolare e per la presenza di ipertensione polmonare conseguente all'insufficienza cardiaca sinistra, potrebbe essere ulteriormente peggiorata dall'incompetenza della valvola tricuspide.

I cani affetti da malattia mitralica restano asintomatici per un periodo molto lungo, e molti di questi muoiono per altre cause senza mai andare incontro a scompenso cardiaco (Borgarelli et al., 2010).

Col progredire della patologia, i sintomi più frequenti sono la debolezza e la difficoltà respiratoria. La debolezza è causata dal ridotto flusso anterogrado ventricolare sinistro e, in alcuni casi, destro. Occasionalmente i cani affetti da malattia mitralica posso presentare sincopi (perdita transitoria della coscienza). Queste sono dovute a un improvviso calo della portata, che, oltre ad essere determinato da un'insufficiente gittata del ventricolo sinistro, può essere collegato a tachiaritmie o ad accessi di tosse che determinano bradicardia (sincope vasovagale) e ridotto ritorno venoso al cuore. La dispnea rappresenta il sintomo principale legato allo scompenso cardiaco congestizio sinistro (edema polmonare) e spesso si associa a tosse. Tali segni possono essere concomitanti a versamento pleurico ed ascite se è presente scompenso cardiaco destro (Olsen et al, 2011).

1.4 Ruolo dell'ecocardiografia

La diagnosi definitiva di malattia mitralica cronica è essenzialmente ecocardiografica. Attraverso tale esame è possibile valutare infatti la presenza di ispessimento, del prolasso o del *flail* di una o entrambe le sue

cuspidi. E' possibile, inoltre, riscontrare con buona accuratezza la presenza o meno di rottura di una corda tendinea (Borgarelli et al, 2010).

Fondamentale è poi la valutazione della dilatazione atriale sinistra. Questo elemento risulta infatti essere l'indicatore indipendente di rischio più affidabile: il rischio di morte da malattia cardiaca nei cani con un atrio dilatato è risultato essere 2,1 volte maggiore rispetto a quelli con dimensioni atriali normali (Borgarelli et al, 2008).

Lo studio delle dimensioni e della funzionalità del ventricolo sinistro è altrettanto importante; con la progressione della patologia, le sue dimensioni telediastoliche aumentano, mentre le dimensioni telesistoliche e lo spessore della parete restano pressoché normali. Ciò rivela una condizione di sovraccarico volumetrico e ipertrofia eccentrica. La frazione d'accorciamento e d'eiezione del ventricolo sinistro sono spesso normali in condizioni di rigurgito mitralico lieve, e più elevate in condizioni di rigurgito da moderato a grave. Il ritrovamento quindi di un valore normale di frazione di accorciamento in presenza di un rigurgito da moderato a grave è un indicatore significativo di disfunzione sistolica. Gli indici di volume telesistolico (ESV e ESVi) rappresenterebbero un indicatore più accurato della funzione sistolica, essendo meno dipendenti dalle condizioni del precarico, ma in realtà anche questi sovrastimano la contrattilità miocardica intrinseca in cani con insufficienza cardiaca e con un'attivazione del sistema di compenso simpatico (Olsen, 2011).

Altro punto fondamentale consiste nella valutazione qualitativa e quantitativa del rigurgito mitralico attraverso il metodo Doppler a codice di colore e spettrale.

I parametri indicativi di disfunzione diastolica sono rappresentati dall'ingrandimento ventricolare sinistro, dalle modificazioni del flusso transmitralico e del flusso delle vene polmonari. In particolare, una velocità di picco dell'onda E maggiore di 1,2 m/s è stata associata ad un aumento del rischio di morte sia nei cani in fase preclinica sia in quelli con insufficienza cardiaca congestizia (Borgarelli et al, 2008).

L'ecocardiografia è infine un metodo affidabile per rilevare la presenza d'ipertensione polmonare, come verrà approfondito nei prossimi capitoli.

1.5 Classificazione dei pazienti affetti da malattia degenerativa mitralica

In medicina veterinaria come in medicina umana sono stati proposti diversi tipi di classificazione dei pazienti affetti malattia degenerativa mitralica.

Le classificazioni della New York Heart Association modificata e dell'International Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC) forniscono uno schema semiquantitativo per la valutazione della gravità dei segni clinici del paziente. La classificazione ISACHC prevede infatti la stratificazione in 4 classi: nella classe I vi sono i pazienti con malattia cardiaca asintomatica senza (classe Ia) o con (classe Ib) ingrandimento camerale, nella classe II quelli con malattia cardiaca che causa sintomatologia clinica a riposo o in seguito ad un lieve esercizio, nella classe III quelli con malattia cardiaca che presentano segni clinici avanzati di insufficienza cardiaca congestizia e che possono essere curati a casa (IIIa) o che necessitano di un trattamento ospedaliero acuto (IIIb).

Il limite di questa classificazione consiste nel fatto che si basa solo su una valutazione soggettiva dei segni clinici, che possono cambiare in maniera drammatica da un momento all'altro (Atkins et al, 2009).

Nel 2009 sono state pubblicate dall'American College of Veterinary Internal Medicine le linee guida per la diagnosi e il trattamento della malattia degenerativa mitralica, ed in questo documento è stata proposta anche una nuova classificazione per sostituire la tradizionale classificazione ISACHC.

Questo sistema di classificazione è basato su quello proposto in medicina umana nel 2001 dall'American College of Cardiology. Le principali novità consistono nell'introduzione di una classe per i pazienti a rischio di sviluppo di patologia cardiaca, ma che allo stato attuale non la presentano,

con l'obiettivo di stimolare programmi di screening e la messa in atto d'interventi atti a ridurre il rischio di sviluppare la malattia (Atkins, 2009). Inoltre, secondo questo nuovo schema, il paziente non può retrocedere di classe, quindi se per esempio dopo la terapia i segni clinici scompaiono, la classe di insufficienza cardiaca rimane invariata.

Classe A	Cani a rischio di sviluppo di malattia mitralica cronica, ma privi di disordini cardiaci strutturali (es. Cavalier King Charles Spaniel)
Classe B1	Cani con malattia mitralica cronica che non hanno mai sviluppato segni clinici e che non presentano segni radiografici o ecocardiografici di rimodellamento cardiaco
Classe B2	Cani con malattia mitralica cronica che non hanno mai sviluppato segni clinici, ma presentano segni radiografici o ecocardiografici di rimodellamento cardiaco
Classe C	Cani con malattia mitralica cronica e segni clinici passati o attuali associati a rimodellamento cardiaco.
Classe D	Cani con malattia mitralica cronica protratta e refrattaria alla terapia standard.

Tabella 1 Sistema di classificazione per i cani affetti da malattia mitralica cronica. Da Atkins et al, 2009

1.6 Terapia

Attualmente non è disponibile alcuna terapia volta a inibire o a prevenire la degenerazione valvolare, e la sostituzione chirurgica della valvola è ancora eticamente e tecnicamente inaffrontabile. Il trattamento medico della malattia degenerativa mitralica è quindi volto al miglioramento sia della qualità della vita attraverso la risoluzione dei segni clinici sia all'aumento della sopravvivenza. Il problema su cui si sta ancora ampiamente discutendo è quello del “quando” cominciare la terapia medica.

La classe B, che include i cani asintomatici, raggruppa al suo interno la maggioranza dei cani affetti da malattia mitralica cronica; la sua ulteriore divisione in due sottoclassi, B1 e B2, evidenzia la disomogeneità dei cani presenti al suo interno. Essa, infatti include sia i soggetti con un grado molto lieve di malattia, sia quelli in stadio avanzato ad alto rischio di scompenso cardiaco (Borgarelli et al, 2010)

Se nelle linee guida dell'ACVIM c'è un consenso totale sul non somministrare farmaci ai soggetti in classe B1, vi sono pareri discordanti per quanto riguarda la classe B2. Tuttavia, considerando i dati emersi dai trial terapeutici (effettuati sull'efficacia degli Ace-inibitori, non ancora pubblicati studi su beta-bloccanti, pimobendan, spironolattone o amlodipina) e la conoscenza del fatto che una percentuale relativamente piccola dei cani con malattia mitralica cronica asintomatica va incontro a scompenso o a morte immediata, la maggioranza dei membri preferisce evitare qualsiasi tipo di farmaco anche in questo gruppo (Atkins et al, 2009).

Per quanto riguarda la classe C, il trattamento medico diventa invece fondamentale: questo ha come obiettivi la riduzione delle pressioni venose per alleviare l'edema e i versamenti, il mantenimento di un'adeguata gittata cardiaca per prevenire segni di debolezza, letargia e iperazotemia prerenale, la riduzione del carico di lavoro cardiaco e del rigurgito mitralico e la protezione del cuore da effetti negativi a lungo termine d'influenza neuromorale (Olsen et al, 2011).

Nelle linee guida viene proposta una terapia di tipo acuto e una di tipo cronico. Il trattamento acuto si basa sulla somministrazione di furosemide (diuretico d'ansa), pimobendan (inibitore della fosfodiesterasi III), nitroprusside (vasodilatatore) nei casi più gravi, infine, ossigeno, sedazione e paracentesi e toracocentesi se necessarie.

Il trattamento di tipo cronico prevede la somministrazione di furosemide, pimobendan e di un ACE inibitore.

Per quanto riguarda i pazienti in classe D è stato raggiunto consenso circa la somministrazione di furosemide, pimobendan, ACE inibitore,

nitroprusside, idralazina o amlodipina (vasodilatatori arteriolar), ossigeno, paracentesi e toracocentesi se necessarie nel trattamento acuto e furosemide, pimobendan, ACE inibitore e spironolattone (diuretico risparmiatore di potassio) nel trattamento cronico (Atkins et al, 2009).

1.7 Eventi associati

Le conseguenze più gravi che possono essere collegate alla malattia mitralica cronica sono la rottura di corde tendinee, che può portare ad un improvviso sovraccarico di pressione e a edema polmonare fulminante; l'insorgenza di tachiaritmie secondarie alla dilatazione atriale, che se arrivano ad avere una frequenza di scarica ventricolare superiore a 180 bpm diventano emodinamicamente significative; la rottura atriale sinistra ed il conseguente tamponamento cardiaco ed infine l'insufficienza cardiaca destra (Olsen et al, 2011).

Lo sviluppo di insufficienza del settore destro riconosce tre meccanismi fondamentali:

1. la concomitante presenza di un processo degenerativo della valvola tricuspide analogo a quello della mitrale che esita in insufficienza tricuspidalica. E' stato riportato che nel 32,5% dei cani affetti da malattia mitralica cronica è anche presente una degenerazione della valvola tricuspide (Olsen et al, 2011). In assenza di ostruzione della valvola polmonare o d'ipertensione polmonare, l'insufficienza tricuspidalica è ben tollerata, ma un minimo aumento della pressione nell'arteria polmonare esita in una dilatazione ventricolare e atriale destra e un conseguente peggioramento dell'insufficienza per dilatazione dell'anulus tricuspidalico.
2. lo sviluppo di ipertensione polmonare, secondaria all'aumento delle pressioni dell'atrio sinistro e delle vene polmonari ma anche ad una concomitante malattia cronica delle vie aeree (Olsen et al, 2011).

3. la disfunzione, sistolica e diastolica, a cui va incontro progressivamente il ventricolo destro per il fenomeno dell'interdipendenza ventricolare.

A seconda delle varie situazioni, questi tre meccanismi possono influire in ugual misura allo sviluppo di insufficienza cardiaca destra, oppure uno può giocare un ruolo preponderante sugli altri.

1.8 L'ipertensione polmonare nella malattia degenerativa mitralica

L'ipertensione polmonare consiste in un aumento pressorio a carico dell'arteria polmonare; in particolare si può parlare d'ipertensione polmonare quando, mediante cateterizzazione cardiaca, vengono rilevate delle pressioni sistoliche e medie dell'arteria polmonare maggiori rispettivamente a 30 e 20 mmHg (Boon, 2011).

Una classificazione semplificata dell'ipertensione polmonare distingue, a seconda del comparto vascolare che viene coinvolto primariamente, quella precapillare da quella postcapillare.

Un'altra classificazione si basa sul processo patologico responsabile dell'ipertensione polmonare e include cinque categorie: ipertensione polmonare arteriosa, ipertensione polmonare associata a ipertensione delle vene polmonari causata da patologie del settore sinistro del cuore, ipertensione polmonare associata a patologie polmonari e/o ipossiemia, ipertensione polmonare associata a patologie trombotiche e/o emboliche e un'ultima categoria con le altre cause più rare (Fleming e Ettinger, 2006).

L'introduzione della metodica Doppler nella diagnosi d'ipertensione polmonare, ha fornito importanti informazioni sulla sua reale prevalenza e importanza nei cani con insufficienza cardiaca sinistra, sebbene i dati in letteratura siano ancora discordanti: in uno studio di Borgarelli et al su cani affetti da malattia mitralica cronica, il 31% di questi presentava ipertensione polmonare (Borgarelli et al, 2004); mentre secondo il gruppo di studio francese la percentuale si aggirava intorno al 14% (Serres et al, 2006).

I meccanismi patogenetici proposti per spiegare l'aumento della pressione arteriosa polmonare sono:

1. la trasmissione retrograda della pressione atriale sinistra
2. la vasocostrizione arteriosa reattiva (collegata all'attivazione neuroormonale, che include l'attivazione del sistema nervoso simpatico, del sistema renina-angiotensina-aldosterone e l'aumento dell'attività dell'endotelina, della fosfodiesterasi 5 e del peptide natriuretico)
3. le modificazioni strutturali della vascolarizzazione polmonare, che evolvono verso una necrosi vascolare (figura 1.2) (Stepien, 2009).

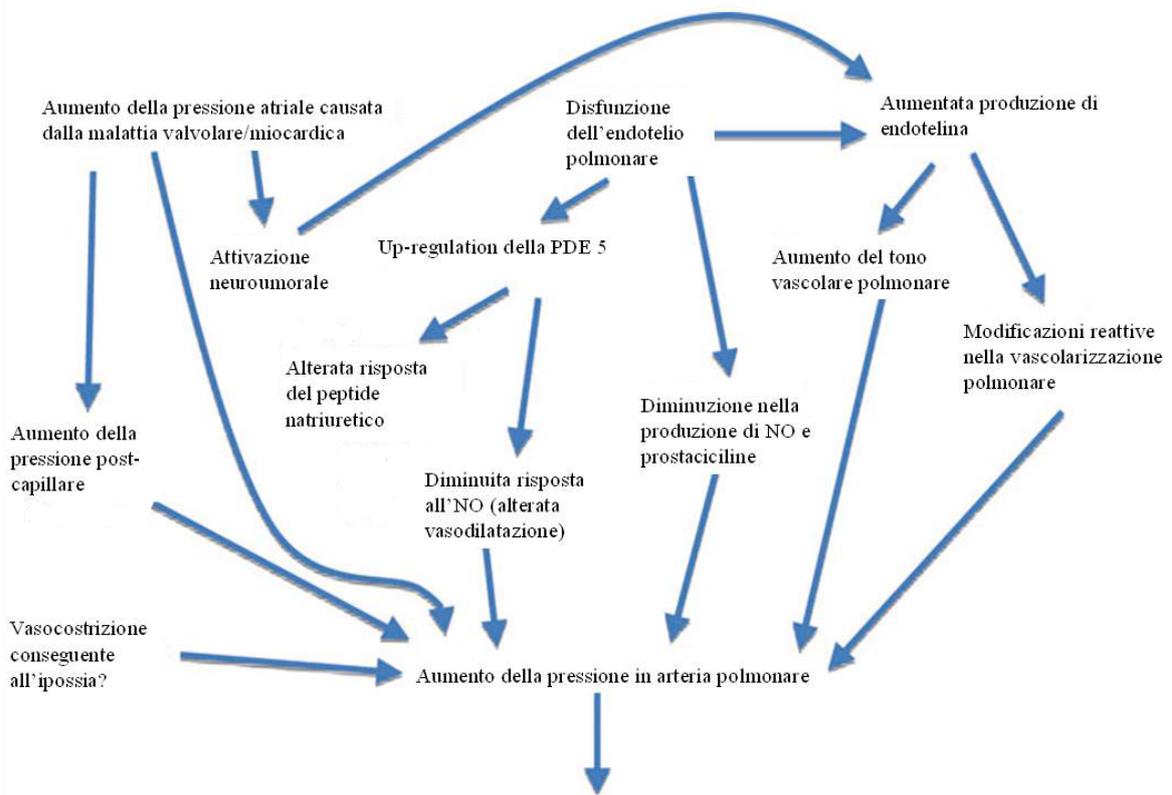


Figura 1.2 Meccanismo patogenetico dell'ipertensione polmonare arteriosa in corso di malattia mitralica degenerativa. Da Stepien, 2009, modificata.

Il ventricolo destro è molto sensibile ad un aumento del postcarico, quindi in presenza di ipertensione polmonare si instaura rapidamente una situazione di rimodellamento miocardico con insufficienza cardiaca destra e compaiono segni clinici come l'intolleranza all'esercizio, sincope e segni di scompenso cardiaco destro.

Come già accennato nell'introduzione, in medicina veterinaria non esistono studi sulla prognosi dei pazienti con ipertensione polmonare secondaria a malattia mitralica cronica. Da studi in medicina umana è emerso invece che ad ogni aumento della pressione polmonare di 5 mmHg misurata con cateterismo cardiaco, corrisponde un aumento del rischio di 10 volte di morte improvvisa/trapianto cardiaco (Borgarelli, Seminario internazionale Sicarv, Cremona, 2011).

Data l'attuale disponibilità in medicina veterinaria di terapie efficaci per curare questa complicanza dell'insufficienza cardiaca sinistra (in primo luogo, sildenafil, inibitore della fosfodiesterasi V, utile per la sua azione di vasodilatatore arteriolare, e pimobendan, farmaco esclusivamente veterinario che ha come effetto la diminuzione della pressione dell'arteria polmonare attraverso la soppressione della fosfodiesterasi III), nell'esame ecocardiografico di tutti i pazienti affetti da malattia mitralica cronica dovrebbe essere incluso uno screening per l'ipertensione polmonare.

CAPITOLO 2: TECNICHE AVANZATE DI ECOCARDIOGRAFIA: TISSUE DOPPLER IMAGING

2.1 Principi del Doppler tissutale

Il Doppler tissutale, o TDI (*Tissue Doppler Imaging*) è una moderna tecnica ecocardiografica che permette la misurazione delle velocità miocardiche in tempo reale.

I principi fisici del TDI sono simili a quelli del Doppler convenzionale. Il miocardio, a differenza del sangue, è caratterizzato da velocità molto basse (meno di 10 cm/s), ed elevata ampiezza di segnale. Pertanto per studiare il movimento miocardico, sono necessari dei settaggi strumentali particolari come la soppressione dei filtri di parete e la diminuzione delle impostazioni di guadagno (Chetboul, 2010).

Le velocità miocardiche misurate col TDI sono composte dalle velocità miocardiche intrinseche e da quelle risultanti dal complesso movimento del cuore all'interno del torace. Si possono distinguere, inoltre, due tipi di movimento intrinseco: la contrazione circonferenziale e la contrazione longitudinale, risultante dalla contrazione delle fibre longitudinali dello strato subendocardico (Chetboul, 2002).

Tramite una proiezione parasternale sinistra apicale in asse lungo a quattro o cinque camere, il vettore del movimento longitudinale sarà parallelo al segnale Doppler e si avrà di conseguenza una quantificazione ottimale del movimento longitudinale, mentre il movimento circonferenziale non verrà rilevato. La situazione opposta si ha con una proiezione parasternale destra in asse corto, in cui verrà quindi quantificato con precisione soprattutto il movimento circonferenziale.

Esistono tre specifiche modalità TDI: la modalità a Doppler pulsato spettrale, a codice di colore e M-Mode.

2.2 Modalità a Doppler Pulsato (PW-TDI)

La modalità a Doppler pulsato fornisce informazioni sui movimenti del miocardio attraverso un singolo volume campione, posizionato nello spessore della parete miocardica in una delle due proiezioni citate in precedenza (Chetboul, 2010).

Quando il miocardio si avvicina alla sonda, le velocità per convenzione risultano essere positive, quando si allontana invece le velocità miocardiche risultano essere negative.

Come viene mostrato in figura 2.1, posizionando il volume campione sulla parete marginale del ventricolo a livello di anulus valvolare, a partire da una proiezione parasternale sinistra apicale, si rileva una breve fase iniziale di contrazione isovolumetrica, un'onda sistolica S_a seguita da una breve fase di rilasciamento isovolumetrico e infine due onde diastoliche negative (onde e' e a'), delle quali l'onda e' è associata, al pari dell'onda E dei flussi transmitralico e transtricuspidalico, al riempimento passivo protodiastolico, mentre l'onda a' , al pari dell'onda A di flusso, al riempimento telediastolico.

Mentre le velocità delle onde E e A rilevate mediante la tradizionale metodica a Doppler pulsato sono fortemente dipendenti dalle condizioni di carico, le corrispondenti onde e' e a' , essendo l'espressione di velocità miocardiche, potrebbero rappresentare degli indici molto più attendibili di disfunzione diastolica, in quanto meno legati alle condizioni di carico (Tidholm et al, 2009).

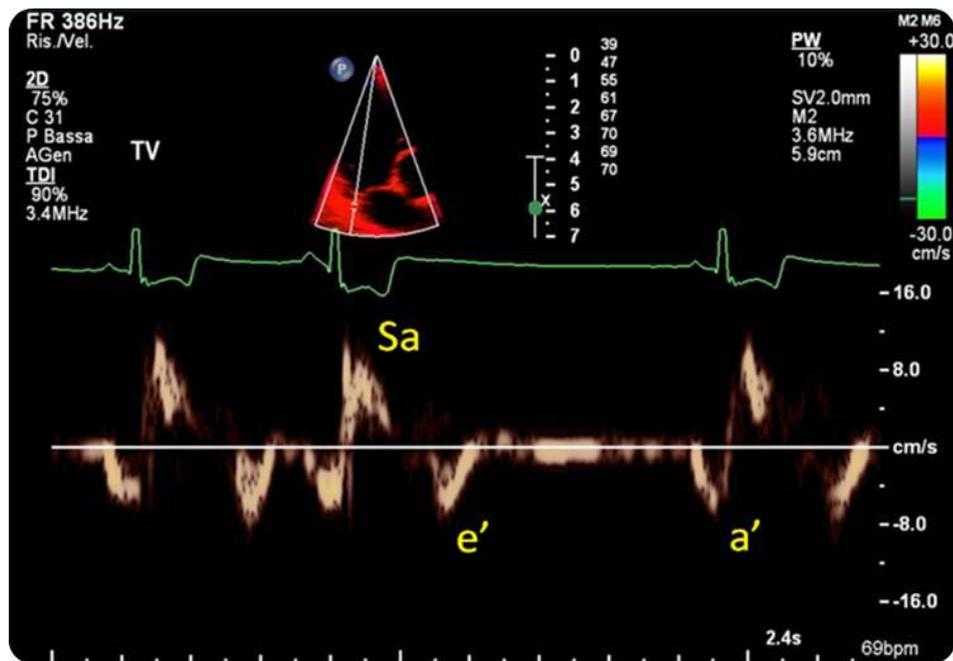


Figura 2.1 Profilo Doppler pulsato dell'anulus tricuspidalico di cane sano. Sono identificabili un'onda Sa sistolica, un'onda e', più alta della successiva onda a'.

2.3 Modalità 2D a codice di colore (color TDI)

La modalità 2D a codice di colore rileva le velocità di tutti i punti indagati sovrapposte all'immagine 2D. Vale la convenzione del Doppler tradizionale, secondo la quale le velocità miocardiche in avvicinamento verso il trasduttore sono riportate in rosso e quelle in allontanamento sono riportate in blu. Le proiezioni sono le medesime utilizzate con la modalità a Doppler pulsato.

Questa metodica ha il vantaggio di permettere un'immediata valutazione complessiva delle velocità miocardiche e una successiva analisi *off-line* delle velocità nei diversi punti d'interesse servendosi di appositi software. A differenza della modalità TDI a doppler pulsato, è possibile quindi analizzare a posteriori diversi segmenti miocardici, tramite lo spostamento del volume campione (Chetboul et al, 2005).

Il profilo delle velocità così ottenuto appare comunque molto simile a quello ottenuto tramite PW TDI, anche se i dati non possono essere confrontati, perché la metodica TDI a codice di colore ha una minor

risoluzione temporale e riporta delle velocità medie, quindi più basse, di quelle misurate col TDI pulsato (Chetboul, 2010) (figura 2.2).

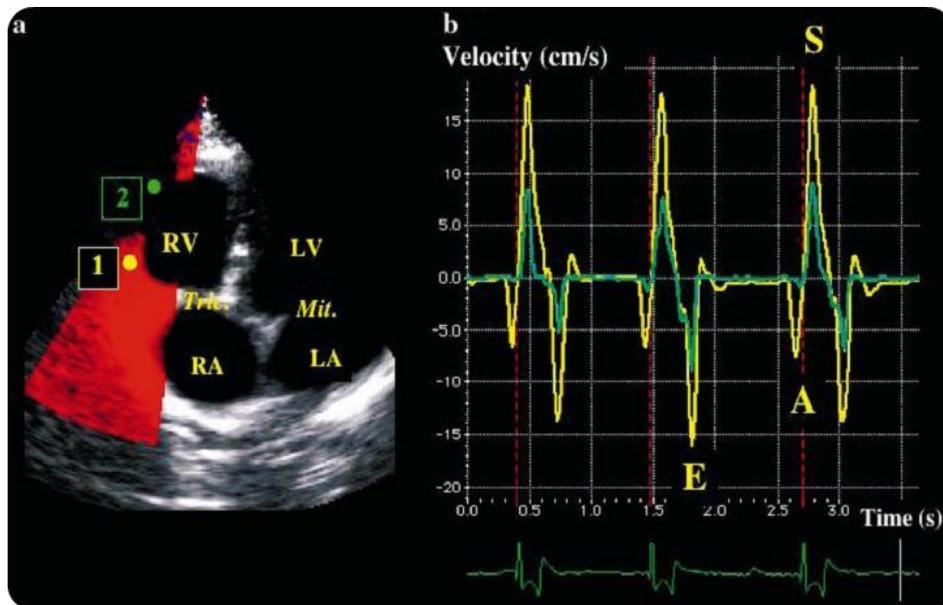


Figura 2.2 Utilizzo della metodica TDI a codice di colore per lo studio della parete marginale del ventricolo destro, tramite una proiezione parasternale sinistra apicale. Il rosso sta ad indicare una velocità in avvicinamento verso il trasduttore (a). Analisi off-line a posteriori delle velocità longitudinali miocardiche medie in due differenti punti della parete marginale del ventricolo destro (volume campione in posizione 1, il cui profilo appare a destra in giallo: segmento basale; volume campione in posizione 2, il cui profilo appare destra in verde: segmento apicale. LA, atrio sinistro; LV, ventricolo sinistro; Mit., valvola mitrale; RA, atrio destro; RV, ventricolo destro; Tric., valvola tricuspide). Il segmento basale si muove con una velocità longitudinale maggiore rispetto a quello apicale (b). Da Chetboul et al, 2005

2.4 Modalità Doppler M-mode

Con questa metodica le velocità miocardiche vengono valutate lungo una linea di scansione selezionata, allo stesso modo del M-mode convenzionale, offrendo una più alta risoluzione temporale se paragonata al Doppler 2D. Come per quest'ultimo, inoltre, è possibile eseguire un'analisi *off-line* tramite l'utilizzo di un software specifico che permette anche una quantificazione delle velocità nei diversi strati. (Chetboul V., 2002)

Le misurazioni M-mode possono essere eseguite lungo una linea rettilinea che attraversa in qualsiasi direzione l'immagine 2D (figura 2.3), oppure in

alternativa può essere disegnata sull'immagine 2D una curva con una forma arbitraria, generalmente posizionata nello spessore del miocardio, dal quale ne risulta sul display un' immagine chiamata "curva anatomica M-mode"(CAMM) (figura 2.4) (Heimdal A., 2007).

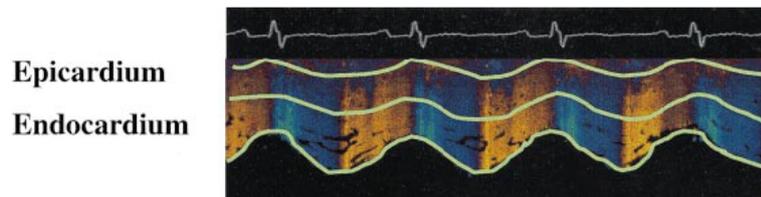


Fig. 2.3 TDI M-mode della parete anteriore. La parete è stata divisa in due strati (epicardio ed endocardio) e per ognuno di questi è stata misurata la media delle velocità durante il ciclo cardiaco. Da Chetboul V., 2002, modificato.

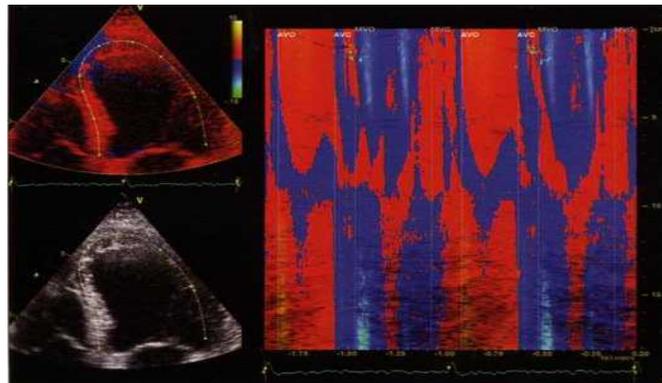


Fig. 2.4 CAMM di due cicli cardiaci consecutivi. Mappa della velocità dei segmenti indicati dalla curva disegnata nel pannello di sinistra, e che corrisponde al setto all'apice e alla parete libera del ventricolo sinistro. AVO, apertura valvola aortica; AVC, chiusura della valvola aortica; MVO, apertura valvola mitrale; MVC, chiusura valvola mitrale. Da Heimdal A., 2007, modificato.

2.5 Strain e Strain Rate TDI-derivati

Strain e Strain Rate sono delle misure della deformazione, ed il loro utilizzo per descrivere i meccanismi della muscolatura cardiaca è stato introdotto per la prima volta da Mirsky e Parmley nel 1973.

La lettera greca epsilon ε è generalmente usata come simbolo dello strain convenzionale, che nell'ambito della letteratura ecografica viene denominato **Lagrangian Strain**, e descrive la deformazione di un oggetto (*Smiseth O. Edvardsen T., 2007*).

La definizione fisica di ε , per un oggetto che viene sottoposto ad uno stress o ad una forza e subisce una deformazione di tipo unidimensionale, sarà la variazione in lunghezza dell'oggetto rispetto alla lunghezza di partenza:

$$\varepsilon = \frac{L - L_0}{L_0}$$

dove L_0 è la lunghezza originaria, ed L è la lunghezza dell'oggetto a seguito della deformazione. (*Caso P. et al., 2005*)

Lo ε è un valore adimensionale e può essere rappresentato sotto forma di numero frazionario o di percentuale. In pratica uno strain frazionario con valore di -0.2, corrisponde ad uno strain percentuale del -20%. Questo avrà valore positivo se L sarà maggiore di L_0 , che sta a significare che l'oggetto ha subito un allungamento; mentre si avrà un valore negativo se L sarà minore di L_0 , cioè quando l'oggetto subisce un accorciamento (*Heimdal A., 2007*).

Nel contesto ecocardiografico lo ε si riferisce alla deformazione di un segmento miocardico, quindi contrazione o allungamento, nel tempo (*Chetboul V., 2010*).

Per convenzione lo ε , può essere visualizzato come mappa di colore, ed i codici di colore per lo ε sono tipicamente rossi per valori negativi, e blu per valori positivi, oppure come profilo di deformazione. In quest'ultimo caso, la rappresentazione dello studio della funzione longitudinale, non sarà molto dissimile da quella delle velocità miocardiche, con la sola differenza che la polarità delle onde risulta invertita, cioè in sistole negativa ed in diastole

positiva (avranno, invece, uguale polarità quando si valuta la deformazione radiale). In questo caso il tracciato sarà costituito dall'asse delle ordinate, con i valori di deformazione (per lo ϵ) e dal tempo sull'asse delle ascisse (figura 2.5)(*Caso P. et al., 2005*).

L'acronimo SR è comunemente usato per indicare lo Strain Rate. Mentre lo ϵ indica la quantità di deformazione, lo SR indica la velocità con cui questa deformazione si verifica, in quanto lo ϵ rappresenta la derivata temporale dello SR, ed è espresso in 1/sec o sec^{-1} , in base alla formula:

$$\mathbf{SR} = (\mathbf{L}-\mathbf{L}_0/\mathbf{L}_0)/ \mathbf{T}$$

dove **T** è il tempo.

Supponendo che lo SR sia una costante, lo ϵ sarà uguale al tempo moltiplicato per lo SR, e quindi per uno SR di -2 sec^{-1} , può risultare uno ϵ di -2 , che corrisponde in percentuale a -200% .

$$\mathbf{SR} = d\epsilon/d\mathbf{T}$$

Quindi uno SR positivo sta ad indicare che l'allungamento dell'oggetto è aumentato, mentre un valore negativo indica che l'allungamento si è ridotto.

Infine se l'allungamento è costante, lo SR è uguale a zero.

In pratica lo SR TDI-derivato si ottiene attraverso l'analisi computerizzata del gradiente delle velocità miocardiche, e da queste si acquisisce una rappresentazione grafica della relazione fra il tempo e lo SR. Una volta che quest'ultimo è stato calcolato per ogni istante della deformazione, può essere calcolato lo ϵ come integrale temporale dello SR.

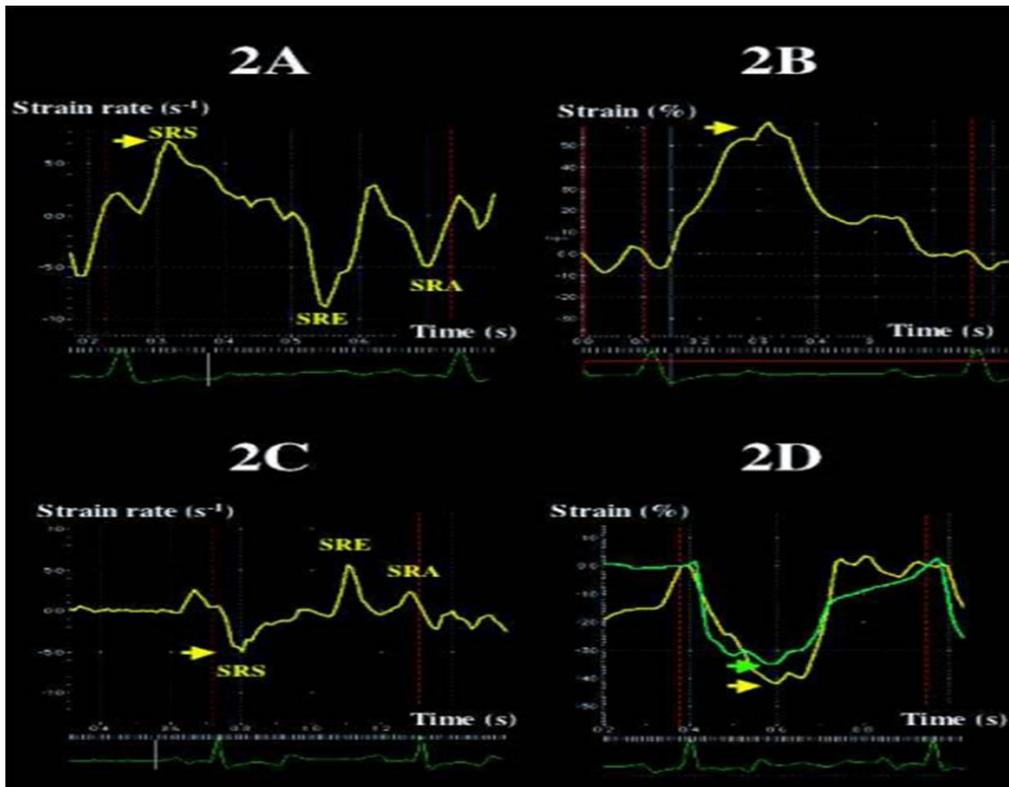


Figura 2.5: Esempio di profili di ϵ e SR longitudinali e radiali ottenuti in un cane sano. **2A**, profilo SR normale della deformazione radiale ventricolare che mostra un'onda positiva sistolica (SRS), e due onde negative diastoliche (SRE e SRA). **2B**, profilo ϵ normale della deformazione radiale ventricolare, ottenuto dall' integrale dello SR; ha valore positivo massimo a fine sistole. **2C**, profilo SR normale della deformazione longitudinale ventricolare alla base, che mostra un'onda negativa sistolica (SRS), e due onde positive diastoliche (SRE e SRA). **2D**, profilo ϵ normale della deformazione longitudinale ventricolare, ottenuto dall' integrale dello SR; ha valore negativo massimo a fine sistole. È rappresentato simultaneamente il profilo di ϵ ottenuto all'apice destro (linea verde). Le frecce indicano il punto in cui è stato stimato il picco di ϵ e SR sistolico. Da Chetboul modificato

Naturalmente negli strumenti di elaborazione disponibili in commercio, quest'integrale viene calcolato automaticamente.

Come per lo ϵ , anche lo SR può essere visualizzato come mappa di colore, con il quale i valori negativi di SR sono codificati con colori fra il giallo ed il rosso, a seconda che questi siano rispettivamente bassi o alti, e fra l'azzurro

chiaro ed il blu scuro a seconda che i valori positivi siano rispettivamente bassi o alti; oppure come profilo di deformazione (figura 2.5). (Heimdal A., 2007)

Strain e strain rate del miocardio possono essere misurati in maniera non invasiva ed in tempo reale dalle velocità miocardiche regionali ottenute con la tecnica TDI, con buona ripetibilità e riproducibilità.

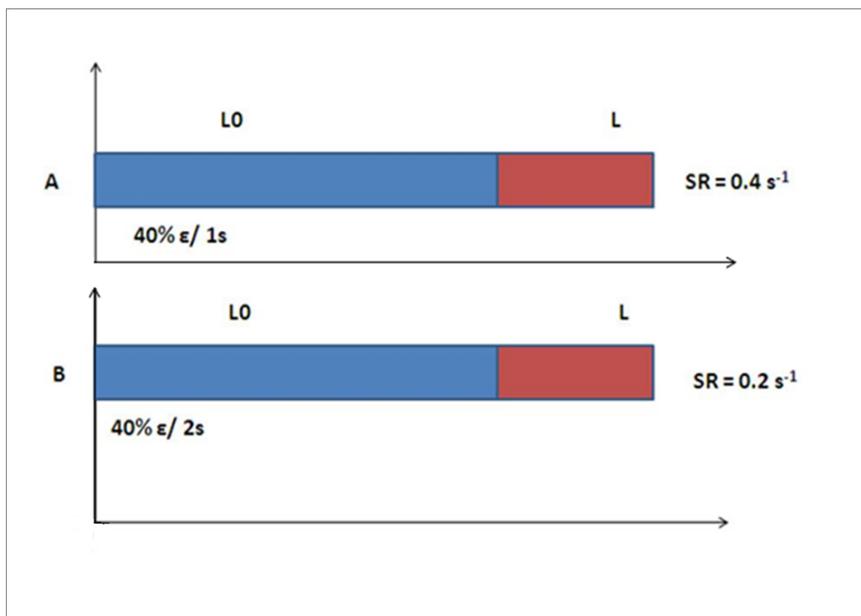


Figura 2.6: Differenza fra ϵ e SR. Rappresentazione di 2 oggetti (A e B) che hanno le stesse dimensioni di partenza (L_0), e raggiungono la stessa quantità di deformazione (L). I due oggetti hanno quindi stesso valore di ϵ . Impiegando però tempi diversi per raggiungere la stessa deformazione (A in 1 secondo e B in 2 secondi), i due oggetti avranno diversi valori di SR.

Questi indici possono superare alcune limitazioni associate alle misurazioni delle velocità ottenute con il TDI, essendo largamente indipendenti dall'effetto di traslazione del cuore dovuto al legame con i segmenti miocardici adiacenti. Inoltre i valori ottenuti con il TDI possono essere compromessi in quanto questa tecnica non permette di discriminare una contrazione da un movimento passivo del miocardio, cosa che è invece possibile con la valutazione di ϵ e SR (Vizzardi E., et al., 2011).

2.6 Applicazioni cliniche di ϵ e SR ventricolari

La misurazione di ϵ e SR con la metodica TDI è stata ampiamente validata e nel corso degli ultimi dieci anni ed è stata utilizzata in diverse situazioni cliniche, che includono per esempio la valutazione della funzionalità miocardica, dell'ischemia, delle cardiomiopatie e dell'asincronia.

L'uso degli indici di ϵ e SR associati ad altri parametri TDI offrono un nuovo approccio alla valutazione della funzione sistolica e diastolica, anche nella specie canina. È stato infatti dimostrato come queste misure si presentino in maniera riproducibile e ripetibile nel cane sveglio e che quindi risultino adeguate per un uso clinico di routine. Infatti misurazioni del movimento radiale e longitudinale ottenute dalla parete del ventricolo destro e dalla parete libera del ventricolo sinistro, hanno mostrato nell'85% dei casi, valori con una variabilità *intra-day* e *between-day* inferiore al 15% (Chetboul V., et al., 2005).

L'analisi dello strain in corso d'ischemia miocardica, è stata largamente studiata nelle persone, dimostrando come in queste condizioni variazioni dello ϵ sistolico compaiano precocemente rispetto alla tecnica TDI. Inoltre rispetto a quest'ultima presenta delle variazioni fra segmenti ischemici e non ischemici nettamente maggiori, risultando quindi la tecnica più sensibile anche per la differenziazione fra i gradi di ischemia grave e moderata (Liang H.Y., et al., 2007).

Per quanto riguarda le cardiomiopatie, alcuni studi sono stati eseguiti sulla cardiomiopatia ipertrofica felina (HCM) e sulla cardiomiopatia dilatativa (DCM) del cane.

Per quanto riguarda i gatti affetti da HCM, mediante questi indici è stato possibile dimostrare come la funzione radiale e, in misura più ampia, quella longitudinale della parete libera del ventricolo sinistro, risulti compromessa indipendentemente dalla presenza di ipertrofia. Questi dati quindi suggeriscono una maggiore sensibilità della tecnica TDI rispetto alla tecnica M-mode convenzionale per la valutazione delle alterazioni miocardiche regionali (Sampradano C., et al., 2006).

In corso di DCM del cane, è stato valutato come le misurazioni dello ϵ , siano più sensibili rispetto a quelle del TDI convenzionale, dimostrando come in un cane affetto da DCM ci sia una significativa riduzione dello ϵ sistolico, sia longitudinale che radiale, della parete libera del ventricolo sinistro, con compromissione della contrattilità ventricolare, associata a disfunzione sistolica del ventricolo destro. Inoltre è risultato interessante come 1/3 dei cani con alterazioni dello strain sistolico non mostrassero alcuna alterazione all'ecocardiografia convenzionale. (*Chetboul V, Gouni V, et al., 2007*)

Inoltre, la presenza di una contrazione ventricolare asincrona è un fattore predittivo di peggioramento dell'insufficienza cardiaca in pazienti con DCM. Inizialmente per la valutazione dell'asincronia ventricolare l'attenzione era rivolta principalmente all'asincronia elettrica come surrogato di quella meccanica. Sebbene, però, quest'ultima sia comune nei blocchi di branca, recenti studi hanno dimostrato che è presente anche in più del 56% dei pazienti con DCM che mostrano un QRS normale all'elettrocardiogramma (ECG) (*Griffiths L.G., et al., 2011*).

Le misurazioni della sincronia intraventricolare ed interventricolare, eseguite mediante la tecnica ϵ e SR, dimostrano che questa è una tecnica applicabile, senza correzioni in base a peso o età del paziente, impiegando la finestra acustica parasternale sinistra, con scansione asse lungo 4-camere (la più comunemente usata nelle persone per la valutazione della sincronia). In questo modo si è dimostrato che nel cane i range di normalità di sincronia ventricolare sistolica sono simili a quelli riportati nelle persone, e che sono meno ampi rispetto a quelli ottenuti con le modalità 2D (rapporto fra il periodo di pre-eiezione del ventricolo sinistro e del ventricolo destro per la sincronia interventricolare; e ritardo meccanico fra setto e parete inferiore per la sincronia intraventricolare). Queste valutazioni possono risultare utili in diverse condizioni, come per esempio in corso di intervento per impianto di *pacemaker*, quando si ha la necessità di determinare un posizionamento del conduttore che induca la più appropriata stimolazione permanente, e quindi un profilo ϵ e SR con la migliore sincronia valutabile (*Estrada A., Chetboul V., 2006*).

A questo proposito per le persone è stato dimostrato con una sensibilità del 95% ed una specificità dell'88%, che un ritardo $\geq 130\text{ms}$ fra il picco di ϵ della parete posteriore e quello del setto, sia un fattore predittivo di un miglioramento acuto della gittata cardiaca per più del 15% dopo la terapia di sincronizzazione cardiaca. (Dohi K, et al., 2005)

Recenti valutazioni di ϵ e SR eseguiti in medicina veterinaria, hanno evidenziato come queste tecniche Doppler presentino differenze significative nelle diverse razze. Risulta quindi necessario stabilire specifici range di riferimento per ognuna di queste. (Chetboul V., et al., 2005) In questo senso uno studio eseguito su 100 Dobermann Pinscher sani, ha permesso di stabilire parametri di normalità per la velocità, lo ϵ e lo SR per questa specie, L'importanza aggiuntiva di questo studio risiede nella particolarità della razza esaminata, per due motivi principalmente: i Dobermann Pinscher sono caratterizzati da un torace profondo e stretto che causa una forma del cuore oblunga, che spesso si traduce in una riduzione della funzione sistolica rispetto ad altre razze (condizione confermata proprio in questo studio); inoltre l'alta prevalenza di DCM in questa razza rende queste valutazioni particolarmente utili proprio per lo studio di questa malattia. (Simak J., et al., 2010)

2.7 Limiti degli indici di deformazione TDI derivati

Come per tutte le modalità ecografiche anche lo Strain e Strain rate derivati dal TDI possono essere soggetti a componenti di disturbo nell'acquisizione dell'immagine. In questo senso risulta importante la condizione creata dall'artefatto da riverbero, che oltre a causare una riduzione della qualità dell'immagine, porta ad un'alterata misurazione dello SR. In questi studi un artefatto da riverbero può causare significativi errori, come si può osservare in figura 2.7, dove una piccola distorsione locale della velocità, può portare ad un ampio cambiamento nella misura dello SR (Heimdal A., 2007).

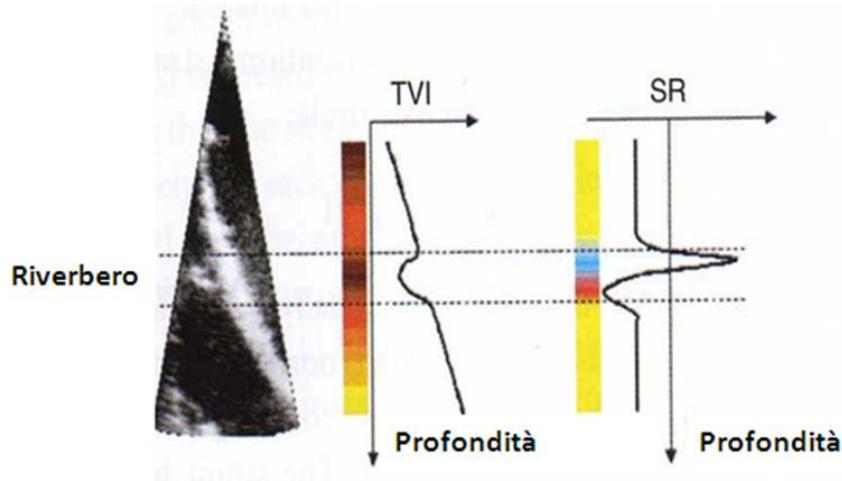


Figura 2.7: Illustrazione dell'effetto di un riverbero locale sulla velocità e sullo strain rate TDI derivati di un s. La barra colorata indica la colorazione del miocardio durante la sistole, mentre la linea nera indica la velocità (TVI) e lo strain rate (SR) a differenti profondità. La linea tratteggiata indica la regione affetta dal riverbero.

Inoltre, come tutte le misure derivate dal Doppler, strain e strain rate sono dipendenti dall'angolo di insonazione. Per questo saranno in grado di stimare lo strain solo lungo il fascio ultrasonografico, senza essere in grado di valutarlo lungo un azimut o un piano perpendicolare. Per cui se il tessuto esaminato non si muove perfettamente in linea con il fascio, le misure ottenute non saranno pienamente affidabili. Questo limita l'uso di questa tecnica TDI-derivata principalmente alla valutazione delle fibre longitudinali con incapacità di quantificare la deformazione nel piano radiale.

Per esempio in corso di dilatazione del ventricolo sinistro, la massima espansione parietale non potrà essere allineata con il fascio ecografico, risultando in una stima dei valori di ϵ potenzialmente alterati e fuorvianti (Artis N.J., et al, 2007).

Una nuova tecnica conosciuta come *Speckle Tracking* o *2D Strain*, permette di superare alcune limitazioni presentate dagli indici TDI-derivati.

2.8 Speckle Tracking 2D

Lo Speckle Tracking bidimensionale (STE) è la più recente tecnica che permette la valutazione della funzione miocardica. Questa utilizza il monitoraggio (*tracking*) degli *speckle*, che sono i puntini bianchi e neri derivati dall'interazione fra il fascio degli ultrasuoni ed il tessuto miocardico.

Il principio fondamentale del funzionamento dello STE, si basa sul fatto che un particolare segmento di tessuto miocardico si visualizza nell'immagine ecografica come un pattern di valori di grigi, o gruppo di pixel. Questo pattern caratterizza, da un punto di vista acustico, il tessuto miocardico sottostante e sarà unico per ogni segmento, fungendo così da "impronta" di quel preciso segmento all'interno dell'immagine ultrasonografica, che viene seguito fotogramma dopo fotogramma durante tutto il ciclo cardiaco. Quindi impostando un alto *frame rate*, superiore alle 70 immagini al secondo, è possibile seguire il movimento degli *speckles* in modo da visualizzare sullo schermo il movimento dei segmenti miocardici in esame (*D'hooge J., 2007*).

Il principale vantaggio di questa tecnica, rispetto al TDI, è dato dall'assenza di angolo-dipendenza con il fascio ultrasonoro, che rende misurabile in tutti i segmenti miocardici la deformazione longitudinale, radiale e circonferenziale.

Studi condotti in medicina veterinaria hanno documentato che ϵ e SR ottenuti con la tecnica STE, presentano una buona riproducibilità e ripetibilità nel cane sveglio, ed una buona correlazione con la metodica TDI nei segmenti miocardici normali. In pratica la combinazione di questi indici con quelli dell'ecocardiografia convenzionale, come la frazione di accorciamento, o gli indici volumetrici, offrono un nuovo ed interessante approccio ecocardiografico Doppler indipendente per la valutazione della funzione miocardica in questa specie (*Chetboul V., Serres F., et al., 2007*).

Cho et al. valutando nell'uomo i valori ottenuti da diversi segmenti miocardici di STE-strain, TDI-strain e dalla risonanza magnetica (MRI), hanno dimostrato come la differenza fra i valori ottenuti con lo STE e la

MRI, siano inferiori alle differenze esistenti fra TDI e MRI (*Artis N.J., et al., 2007*).

Questa tecnica recentemente è stata anche applicata nello studio degli indici di ϵ e SR atriale nelle persone, per valutare con maggiore precisione la funzionalità atriale (in particolare dell'atrio sinistro) in quanto fornisce una stima non Doppler dipendente ed una quantificazione obbiettiva degli indici di deformazione. Si stanno quindi rapidamente raccogliendo i dati sulla praticabilità e precisione delle analisi STE derivate (*Cameli M., 2012.*)

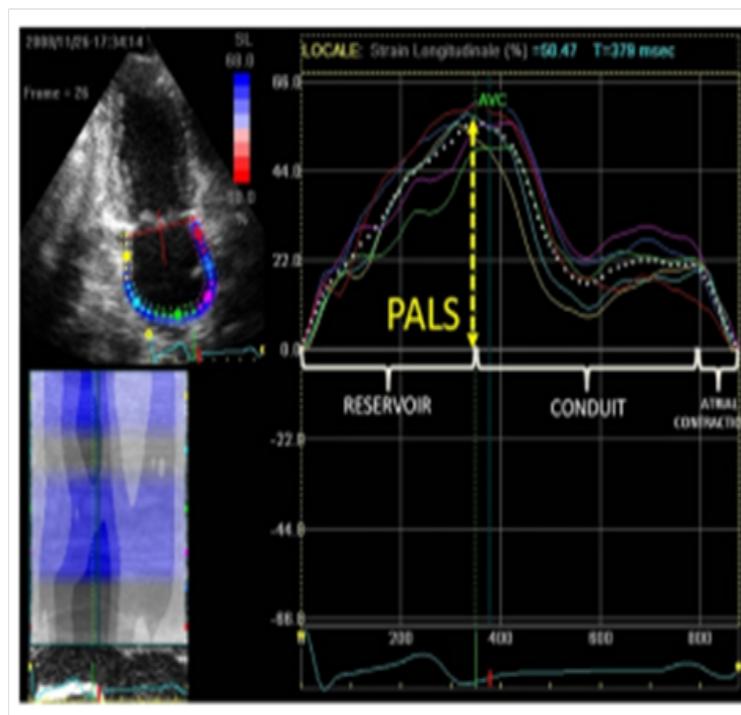


Figura 2.8: Esempio di misurazione del picco di ϵ longitudinale dell'atrio sinistro (PALS), tramite scansione apicale 2 camere. La linea tratteggiata rappresenta la media dello ϵ longitudinale atriale durante il ciclo cardiaco. Da Altekin R.E., 2011, modificato.

PARTE SPERIMENTALE

CAPITOLO 3

PROGETTO 1: VALUTAZIONE ECOCARDIOGRAFICA DELLA DISFUNZIONE DEL VENTRICOLO DESTRO IN CANI CON ISUFFICIENZA CARDIACA SECONDARIA A MALATTIA MITRALICA CRONICA

INTRODUZIONE

Lo studio della funzionalità del ventricolo destro, sia per quanto riguarda la medicina umana che la medicina veterinaria, è stato per molti anni trascurato rispetto all'attenzione posta sulla fisiologia dei comparti sinistri del cuore.

Questo essenzialmente a causa della sua geometria piuttosto complessa, che impedisce una valutazione morfologica attendibile tramite gli strumenti diagnostici tradizionali, e per il fatto che era ritenuto avere un ruolo quasi trascurabile nella funzionalità cardiaca, al punto che veniva dipinto come il comparto “passivo” del cuore.

Più recentemente, è stato dimostrato in modelli sperimentali animali canini come la sostituzione della parete libera del ventricolo destro con una benda pericardica priva di proprietà contrattile potesse essere ben tollerata senza una riduzione significativa dell'output cardiaco (Hoffman et al, 1994).

Un lavoro che ha portato a risultati simili utilizzava come modelli sperimentali cani in cui la parete libera del ventricolo destro veniva isolata dal punto di vista elettrico (Damiano et al, 1991).

Nel corso degli anni però, la concezione di un ventricolo destro “passivo” è stata messa da parte, con l'avanzamento dell'ipotesi che la disfunzione del ventricolo destro giocasse un ruolo fondamentale nella prognosi e nella progressione di una vasta gamma di patologie cardiache congenite e acquisite. In aggiunta, con lo sviluppo di nuove metodiche quali il Tissue Doppler Imaging (TDI), lo speckle tracking, l'ecocardiografia 3D e la

risonanza magnetica, le potenzialità d'indagine della morfologia e della patofisiologia del ventricolo destro sono aumentate sensibilmente.

In questo lavoro, ci siamo posti come primo obiettivo lo studio della funzione del ventricolo destro mediante metodiche ecocardiografiche in cani affetti da malattia degenerativa mitralica cronica, coinvolti quindi da un processo patologico che interessa primariamente il settore sinistro. Questo interesse è nato dal fatto che molti dei cani affetti da questa patologia, che si presentano alla visita presso la nostra struttura, oltre a mostrare i classici segni clinici d'insufficienza cardiaca del settore sinistro, vanno incontro in maniera apparentemente imprevedibile e variabile da soggetto a soggetto anche ad uno scompenso del settore destro, presentando reperti clinici come ascite e versamento pleurico.

Nell'uomo è stato osservato che alcuni parametri ecocardiografici indicativi di disfunzione del ventricolo destro rappresentano un fattore prognostico in pazienti portatori d'insufficienza cardiaca sinistra secondaria a malattia ischemica o cardiomiopatia dilatativa (Ghio et al, 2000; Meluzin et al, 2005; Lloyd Dini et al, 2007; Dokainish et al, 2007). Ci siamo perciò preposti di condurre uno studio simile sui cani affetti da malattia mitralica cronica spontanea a diverso stadio di progressione e con differente grado d'ipertensione polmonare. In tal modo abbiamo voluto approfondire l'analisi dell'interdipendenza ventricolare in questa specie, meccanismo basato sul fatto che le dimensioni, la forma e la *compliance* di un ventricolo influenzano le dimensioni, la forma e la relazione pressione-volume dell'altro attraverso interazioni meccaniche dirette (Santamore et al, 1998).

IL VENTRICOLO DESTRO

3.1 Introduzione

Nel seguente capitolo verranno trattati gli aspetti anatomici, fisiologici e fisiopatologici del ventricolo destro, elementi fondamentali per un suo corretto approccio ecocardiografico.

La complessa geometria che caratterizza il ventricolo destro, l'impossibilità di definire in modo preciso la sua superficie endocardica a causa della struttura trabecolata del miocardio, la posizione retrosternale che impedisce di avere una finestra ecocardiografica ottimale e la forte dipendenza degli indici della sua funzionalità dalle condizioni di carico sono tutte caratteristiche che rendono la valutazione della struttura e della funzionalità di tale comparto più ostica.

3.2 Anatomia del ventricolo destro

Il ventricolo destro nel cane si trova in posizione cranio-ventrale rispetto al ventricolo sinistro.

La complessità della sua geometria risiede nel fatto che in sezione longitudinale appare di forma triangolare, mentre in sezione trasversale si presenta come una semiluna che avvolge la faccia destra e craniale del ventricolo sinistro (fig. 3.1a e 3.1b) (Haddad et al, 2006).

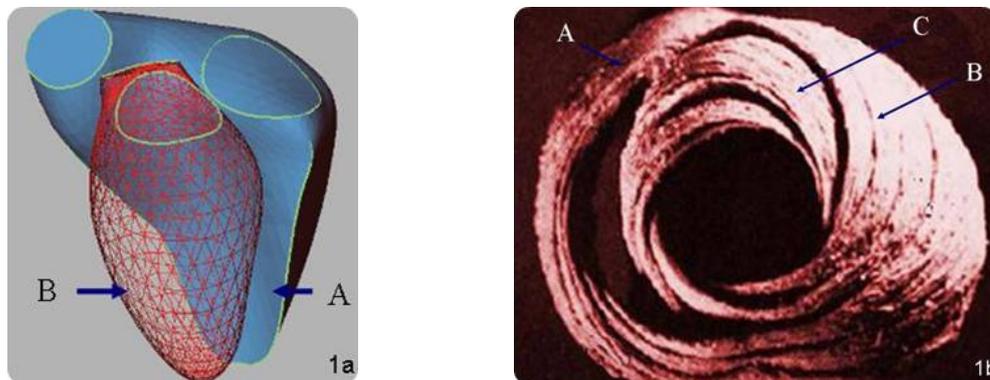


Figura 3.1 Ricostruzione tridimensionale che mostra la complessa forma del ventricolo destro (a). Sezione trasversale dei ventricoli in cui è possibile apprezzare la stratigrafia delle fibre; è evidenziato lo strato medio del ventricolo sinistro, assente nel ventricolo destro (b). Da Sheehan et al, 2008 modificata e da Vitarelli et al, 2009 modificata.

(A: ventricolo destro, B: ventricolo sinistro, C: strato medio del ventricolo sinistro)

La conformazione del ventricolo destro è, quindi, strettamente correlata dalla posizione del setto interventricolare, che in condizioni fisiologiche

possiede forma concava rivolta verso il ventricolo sinistro e rimane tale sia in sistole che in diastole (Vitarelli et al, 2010).

Attualmente il ventricolo destro viene descritto comunemente mediante la sua divisione in tre strutture fondamentali: una cavità di immissione del sangue, una cavità d'eiezione ed il miocardio apicale trabecolato.

La prima, situata a destra e cranialmente, si estende dall'anulus tricuspidalico alle inserzioni dei muscoli papillari; la seconda, conosciuta anche come infundibulo o cono arterioso, situata in posizione craniale e a sinistra, a parete liscia, si restringe progressivamente fino all'ostio del tronco polmonare. Il miocardio apicale trabecolato, invece, si estende inferiormente oltre i punti d'attacco dei muscoli papillari verso l'apice ventricolare e a circa metà della parete anteriore, e presenta delle trabecole più grossolane rispetto a quelle presenti nel ventricolo sinistro (Ho et al, 2006).

Il limite tra la cavità d'immissione e quella d'eiezione è segnato dalla cresta sopraventricolare, robusto rilievo carnoso che borda anteriormente e a sinistra l'ostio atrio-ventricolare e lo separa da quello del tronco polmonare (Barone, 2003).

In vicinanza dei piccoli muscoli papillari prende attacco la trabecola setto-marginale, che nel cane è sottile e accompagnata da due o tre trabecole accessorie, e fa da supporto al fascio di conduzione di Purkinje. Ad essa è stata attribuita la capacità di opporsi mediante la sua contrazione alla distensione del ventricolo, e per questo motivo è conosciuta anche come fascio moderatore (Barone, 2003).

La valvola tricuspide è una struttura che separa l'atrio destro dal ventricolo destro costituita da cinque elementi: l'anulus, le tre cuspidi, le commessure, le corde tendinee e i muscoli papillari (Hurst, 2005).

L'anulus è costituito da un tessuto fibroadiposo estensibile, di conseguenza la dilatazione del ventricolo destro causa di solito un allargamento della circonferenza dell'anulus tricuspidalico che determina un'insufficienza valvolare di varia entità (Hurst, 2005).

La cuspidi angolare (anteriore nell'uomo) è la più larga, è inserita sul bordo della cresta sopraventricolare ed è relativamente mobile; forma una sorta di membrana intracavitaria che separa parzialmente la cavità d'immissione dalla cavità d'eiezione. La cuspidi parietale (posteriore nell'uomo) è solitamente la più piccola, situata a livello della parete marginale. La cuspidi settale, infine, è la meno mobile per la presenza di diverse corde tendinee che la connettono direttamente al setto interventricolare (Barone, 2003).

L'ostio del tronco polmonare occupa la sommità del cono arterioso. E' situato contro la faccia auricolare del cuore ed è provvisto della valva del tronco polmonare, formata da tre valvole semilunari (destra, sinistra e intermedia) (Barone, 2003).

Per quanto riguarda il miocardio, il ventricolo destro presenta una parete marginale ed una settale. La prima forma, nei mammiferi domestici, una superficie concava che termina con una punta arrotondata al fondo del ventricolo; sulla parte sinistra di questa parete si trova, nel cane, il grande muscolo papillare.

La seconda, molto più ispessita, è fortemente convessa, e presenta nei mammiferi domestici un muscolo papillare sub-arterioso, particolarmente esile, e numerosi piccoli muscoli papillari, relativamente robusti.

La muscolatura del ventricolo destro è relativamente sottile se viene confrontata a quella del ventricolo sinistro, per il fatto che le pressioni della circolazione polmonare sono estremamente basse.

Vi sono numerosi studi volti a chiarire l'architettura della disposizione delle fibre ventricolari (Anderson et al, 2009; LeGrice et al, 1995).

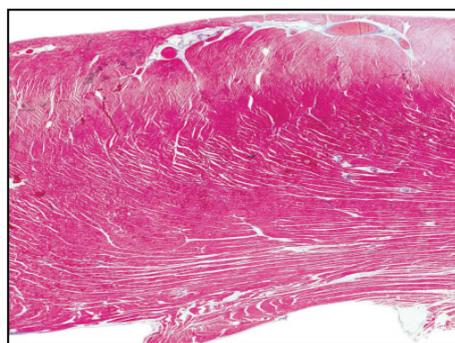


Fig. 3.2 Sezione istologica dello spessore della parete ventricolare destra di cuore suino, con l'epicardio in alto. I miociti nello strato epicardico ed endocardico sono organizzati secondo piani di clivaggio diversi rispetto a quelli dello strato medio. Da Anderson et al, 2009 37

Risultati attendibili sono stati ottenuti mediante un'analisi tridimensionale dell'intera massa ventricolare, possibile grazie alla risonanza magnetica a tensore di diffusione.

Anderson et al. con questa tecnica descrissero popolazioni di miociti con asse lungo tangenziale alle superfici epicardiche ed endocardiche, ed altre che si avvicinano ad avere una direzione perpendicolare ad esse (Fig. 3.3) (Anderson et al, 2009).

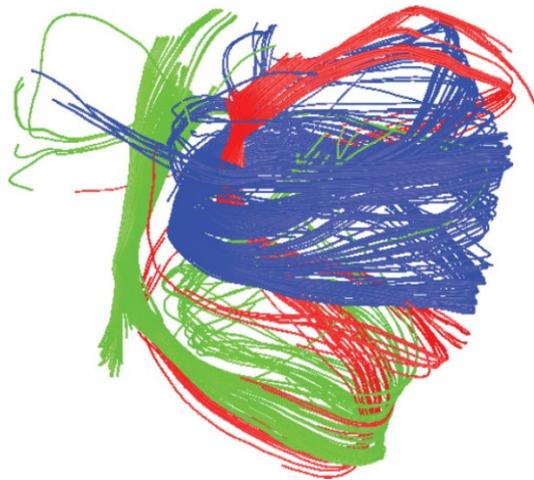


Fig. 3.3 Ricostruzione del cuore di suino ottenuta grazie alla risonanza magnetica a tensore di diffusione. Questa tecnica ha permesso di identificare le direzioni di allineamento dei miociti che connettono le regioni endocardiche a quelle epicardiche. Da Anderson et al, 2009 modificata.

Il miocardio del ventricolo sinistro è costituito da tre strati: uno strato superficiale di fibre orientate obliquamente, uno strato medio predominante di fibre con andamento circolare e uno strato subendocardico con fibre orientate longitudinalmente (Ho et al, 2006).

Questa disposizione contribuisce al complesso movimento del ventricolo sinistro che osserviamo durante la sistole, che è il risultato di movimenti di torsione, traslazione, rotazione e ispessimento (Haddad et al, 2008).

Nel ventricolo destro, invece, la situazione è diversa: oltre che mancare un vero e proprio strato medio, nel sottile strato epicardico le fibre sono orientate prevalentemente in direzione circolare, mentre nel preponderante strato subendocardico prevale una disposizione longitudinale (fig. 3. 4) (Ho et al, 2006).

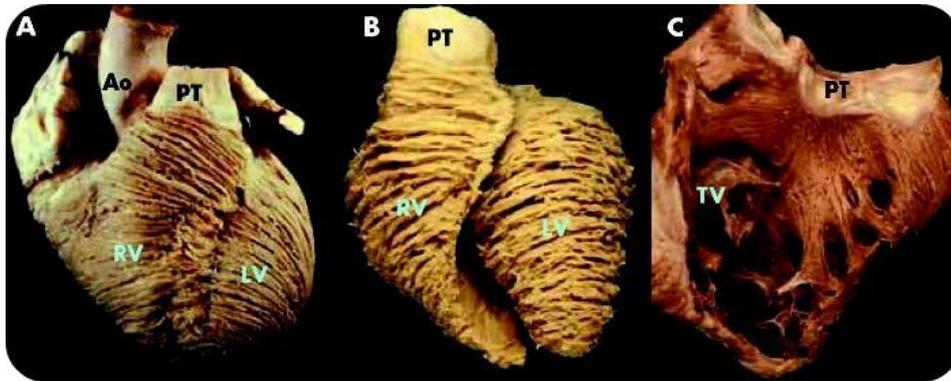


Fig. 3.4 In questi preparati si apprezza (A) l'orientamento delle fibre subepicardiche, circonferenziale nel ventricolo destro (RV) e obliquo nel ventricolo sinistro (LV) (B) l'orientamento delle fibre poste più in profondità, circonferenziale in entrambi i ventricoli (C) l'andamento longitudinale delle fibre subendocardiche del ventricolo destro, che è stato aperto. (TV: valvola tricuspide, PT: tronco polmonare) Da Ho et al., 2006, modificato.

Di conseguenza, la contrazione del ventricolo destro avrà un pattern prevalentemente longitudinale (Haddad et al, 2008).

La continuità tra le fibre muscolari dei due ventricoli li rende funzionalmente collegati; secondo studi sperimentali, una quota tra il 20% e il 40% della pressione e del volume d'eiezione generati dal ventricolo destro risultano dalla contrazione del ventricolo sinistro (Santamore et al, 1998).

3.3 Fisiologia del ventricolo destro

3.3.1 Introduzione

La funzione primaria del ventricolo destro è quella di ricevere il sangue sistemico venoso e di pomparlo nelle arterie polmonari.

In condizioni fisiologiche, il ventricolo destro è connesso in serie con quello sinistro e, di conseguenza, i due comparti devono avere lo stesso volume di eiezione.

3.3.2 Aspetti meccanici della contrazione del ventricolo destro

Grazie all'elevato rapporto superficie-volume, a parità di volume di sangue eiettato, il ventricolo destro deve compiere un movimento verso l'interno minore rispetto al ventricolo sinistro (Haddad et al, 2008).

Durante il breve periodo di contrazione isovolumetrica l'accorciamento del ventricolo destro è prevalentemente circonferenziale (controllato, quindi, dalle fibre subepicardiche), mentre nella predominante fase di eiezione l'accorciamento è longitudinale (controllato dalle fibre subendocardiche) (Vitarelli et al, 2009).

Studi su modelli canini hanno dimostrato che durante la sistole il ventricolo destro si contrae con una sequenza ben precisa: la contrazione parte dalle fibre miocardiche che circondano la cavità d'immissione ed il miocardio apicale e si propaga verso le fibre che delimitano la cavità d'eiezione, con una differenza temporale di circa 25-50 ms (Meier et al, 1980).

La contrazione del primo gruppo di miofibre dura di più di quella del secondo gruppo (Haddad et al, 2008).

Vi sono poi numerosi studi che dimostrano come la fisiologia contrattile del miocardio del ventricolo destro sia differente da quella del sinistro. Rouleau et al., ad esempio, confrontando la velocità di contrazione di miofibre isolate da trabecole e muscoli papillari del ventricolo destro e sinistro di cani sani, ha dimostrato una maggior velocità di contrazione delle fibre del ventricolo destro (Rouleau et al, 1986).

3.3.3 Aspetti emodinamici della contrazione del ventricolo destro

Le caratteristiche della contrazione del ventricolo destro sono strettamente dipendenti dalle condizioni di carico.

Il ventricolo destro ha una fisiologia completamente diversa da quella del sinistro, per il fatto che la vascolarizzazione polmonare a cui è connesso è caratterizzata da una bassa resistenza e da un'alta distensibilità vasale. Il volume d'eiezione del ventricolo destro è pressoché identico a quello del

ventricolo sinistro, ma lo sforzo a cui va incontro il ventricolo destro per l'eiezione di questo volume è circa un quinto di quello sinistro (Sheehan et al, 2008).

Per comprendere questo concetto, basta pensare alla curva pressione-volume del ventricolo destro.

Nel 1971 Shaver ha descritto per la prima volta le importanti diversità emodinamiche esistenti tra ventricolo destro e sinistro, in particolare la differenza tra i tempi di rilasciamento e contrazione isovolumetrici dei due ventricoli (Shaver et al, 1974).

Nel 1988, grazie ad uno studio condotto su preparati ottenuti da 22 cuori umani e animali, utilizzando la tecnica dell'angiografia biplanare con simultanee misurazioni della pressione tramite micromanometro, è stata definita con precisione la relazione pressione-volume del ventricolo destro in condizioni fisiologiche (fig. 3.5) (Redington et al, 1988).

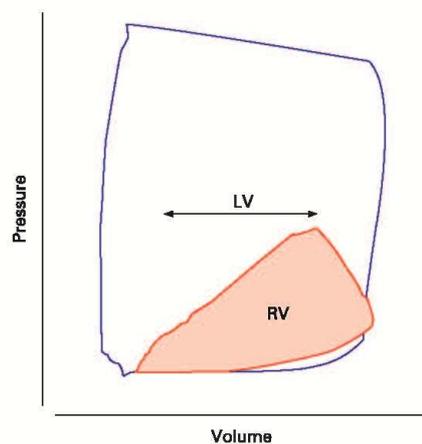


Fig. 3.5 Schematizzazione delle relazioni pressione-volume nel ventricolo sinistro (LV) e nel ventricolo destro (RV) in condizioni fisiologiche. Da Sheehan et al, 2008.

Questa è risultata essere di forma più o meno triangolare, differenziandosi in maniera notevole da quella del ventricolo sinistro, che è di forma rettangolare.

Questo perché durante la sistole la pressione interna del ventricolo destro supera quasi immediatamente la pressione presente nell'arteria polmonare,

e ciò ha come effetto un quasi immediato equilibramento delle pressioni con conseguente apertura della valvola polmonare.

L'eiezione comincia, quindi, molto precocemente durante l'aumento pressorio, e continua anzi anche quando la pressione ventricolare destra risulta essere minore di quella presente nell'arteria polmonare. Questo fenomeno è conosciuto con il nome di *hangout period*, fenomeno tipico esclusivamente del ventricolo destro (Redington et al, 1988).

Definendo come periodo di contrazione isovolumetrico la fase del ciclo che va dalla chiusura della valvola tricuspide all'apertura della valvola polmonare e come periodo di rilasciamento isovolumetrico la fase che va dalla chiusura della valvola polmonare all'apertura della valvola tricuspide, si può dire quindi che nel ventricolo destro entrambi questi periodi sono estremamente brevi e difficili da definire (Haddad et al, 2008).

Vi è poi un altro importante fattore che influisce sulla fisiologia del ventricolo destro, ossia l'effetto della meccanica respiratoria sugli aspetti emodinamici del cuore destro. Ad ogni atto inspiratorio, infatti, vi è un piccolo cambiamento della pressione intrapleurica che porta ad un significativo aumento del ritorno venoso e quindi del precarico ventricolare destro. Questo fenomeno porta ad un continuo aumento e diminuzione del volume d'eiezione del ventricolo destro durante il ciclo respiratorio. Il fenomeno opposto, ossia una caduta del volume d'eiezione del ventricolo destro conseguente ad un aumento della pressione media delle vie aeree, è parzialmente dovuto a modificazioni nel precarico (Sheehan et al, 2008).

3.4 Fisiopatologia del ventricolo destro

Il ventricolo destro tollera meglio aumenti del precarico rispetto ad aumenti del postcarico, definendo come precarico la forza che determina lo stiramento dei sarcomeri del miocardio ventricolare e postcarico la forza che si oppone al loro accorciamento. Aumenti del precarico entro i limiti fisiologici, migliorano addirittura la forza della contrazione del miocardio del ventricolo destro. Questo fenomeno viene spiegato dalla legge di Frank-

Starling, secondo la quale il muscolo cardiaco regola la forza della sua contrazione in relazione alla quantità di sangue presente nel ventricolo alla fine della diastole: più sangue sarà entrato più ne sarà eiettato, garantendo l'equilibrio tra il ritorno venoso e la gittata cardiaca.

Superati però i limiti fisiologici, un eccessivo sovraccarico volumetrico destro può comprimere il ventricolo sinistro e danneggiare la funzione globale ventricolare tramite il meccanismo dell'interdipendenza ventricolare (Haddad et al, 2008; Vitarelli et al, 2010).

E' stato comunque dimostrato mediante studi sul ventricolo destro del cane che, sulla base della relazione tra lunghezza dei sarcomeri e pressione, la *compliance* del ventricolo destro è di gran lunga maggiore di quella del ventricolo sinistro (Leyton et al, 1971).

Dato l'accoppiamento del ventricolo destro con un letto vascolare a basse resistenze, aumenti improvvisi nel postcarico portano ad una caduta drammatica delle sue performance (Sheehan et al, 2008).

Tuttavia, aumenti graduali delle resistenze polmonari, quindi del postcarico, conducono a un modificazione della relazione pressione-volume, portandola verso un pattern più simile a quello tipico del ventricolo sinistro (fig. 3.6A e 3.6B) (Redington et al, 1990).

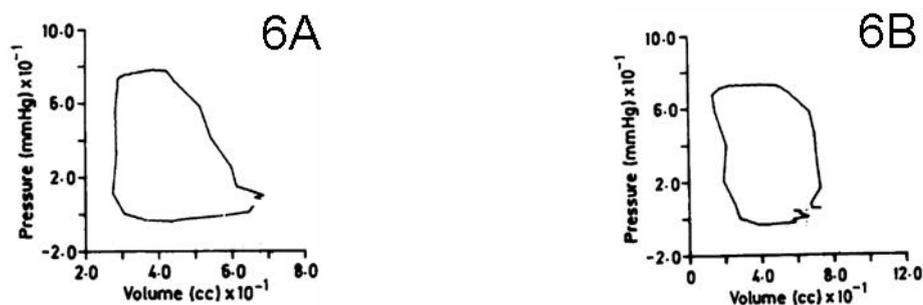


Fig. 3.6 Modificazioni della curva pressione-volume del ventricolo destro in un uomo con tetralogia di Fallot (A) e con stenosi polmonare, in cui i periodi di contrazione e rilasciamento isovolumetrico diventano ben definiti (B). Da Redington et al, 1990, modificato.

L'iniziale adattamento al sovraccarico pressorio, che consiste in una progressiva ipertrofia ventricolare destra, è seguito da una progressiva disfunzione contrattile. La dilatazione camerale che ne consegue, garantendo un aumento del precarico, mantiene un adeguato volume

d'iezione nonostante la contrattilità sia diminuita. Col progressivo indebolimento della contrattilità, cominciano a comparire segni clinici di insufficienza cardiaca destra, caratterizzata da un aumento delle velocità di riempimento, da una disfunzione diastolica e da un diminuito output cardiaco. Questo risulta peggiorato anche dal rigurgito tricuspidalico, causato dalla dilatazione dell'anulus e dalla inefficiente coaptazione delle cuspidi.

3.5 Il fenomeno dell'interdipendenza ventricolare

L'interdipendenza ventricolare si riferisce al concetto per cui le dimensioni, la forma e la *compliance* di un ventricolo influiscono sulla dimensione, sulla forma e sulla relazione pressione-volume dell'altro. Questa influenza è dovuta ad una stretta connessione anatomica tra i due ventricoli: essi sono circondati, infatti, da fibre muscolari comuni, condividono la parete settale e sono costretti all'interno del pericardio (Santamore et al, 1998).

Sebbene sia sempre presente, l'interdipendenza ventricolare è più evidente quando si hanno delle modificazioni nelle condizioni di carico, così come nelle improvvise modificazioni del volume ventricolare legate alla postura o al ciclo respiratorio (Santamore et al, 1998).

L'interdipendenza ventricolare diastolica è stata ampiamente dimostrata in studi sperimentali su modelli cardiaci canini ed è legata in primo luogo al fatto che entrambi i ventricoli sono avvolti da un pericardio comune e condividono il setto interventricolare (fig. 3.7) (Taylor et al, 1967).

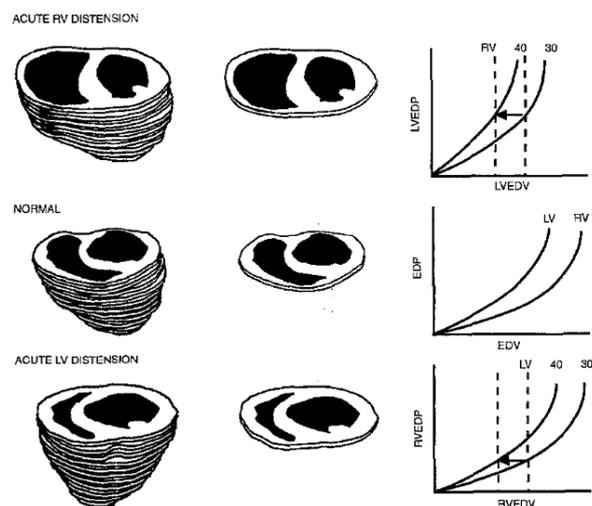


Fig. 3.7 La distensione acuta di una camera influisce direttamente sulla camera opposta. Da Santamore et al, 1998.

In condizioni di sovraccarico volumetrico o pressorio acuto del ventricolo destro, la dilatazione sposta il setto interventricolare verso il ventricolo sinistro, altera la sua geometria e aumenta la costrizione pericardica. Come conseguenza, la curva pressione-volume del ventricolo sinistro si sposta verso l'alto, indicando una riduzione della distensibilità e quindi dell'elastanza. Ciò porta ad una diminuzione del precarico ventricolare sinistro, ad un lieve aumento della sua pressione telediastolica e ad un ridotto volume di eiezione.

Considerando la situazione opposta, un sovraccarico volumetrico o pressorio ventricolare sinistro sposta analogamente verso l'alto la curva pressione-volume e ridistribuisce il riempimento ventricolare destro nella telediastole. E' questa la situazione che verrà approfondita nella parte sperimentale di questa trattazione.

L'interdipendenza ventricolare sistolica è mediata principalmente attraverso il setto interventricolare; il pericardio non sembrerebbe giocare in questo caso un ruolo così importante come nell'interdipendenza ventricolare diastolica. Studi sperimentali su modelli animali hanno mostrato che approssimativamente dal 20% al 40% della pressione sistolica e del volume d'eiezione del ventricolo destro è garantita dalla contrazione del ventricolo sinistro (Santamore et al, 1998).

Studi sperimentali che prevedevano la sostituzione del ventricolo destro con una benda pericardica priva di proprietà contrattile, dimostravano che il setto è in grado di mantenere un output cardiaco adeguato, fino al momento in cui il ventricolo destro non è dilatato e la sua geometria compromessa. Nel momento in cui avviene ciò, infatti, anche la pressione generata dal ventricolo sinistro va incontro ad una rapida caduta. Non è stato chiarito se questa fosse collegata al fatto che una riduzione dell'output ventricolare destro esitasse in un ridotto precarico ventricolare sinistro, oppure al fatto che cambiamenti nella geometria del ventricolo destro influissero sulla performance contrattile del ventricolo sinistro (Hoffman et al, 1994).

In studi successivi è stato determinato che in presenza di un pericardio intatto e funzionale, una dilatazione acuta del ventricolo destro interferisce sulle performance contrattili del ventricolo sinistro soprattutto a causa dell'alterata funzionalità delle fibre comuni e dell'alterata geometria (Sheehan et al, 2008).

3.6 Ruolo dell'ecocardiografia nella valutazione del ventricolo destro

Si è già accennato in precedenza al fatto che le peculiari caratteristiche topografiche, anatomiche e fisiologiche del ventricolo destro rendono la sua valutazione ecocardiografica estremamente complessa.

Negli anni recenti però, la crescente percezione del ruolo critico della funzione del ventricolo destro nel condizionare la prognosi dello scompenso cardiaco e lo sviluppo di nuove metodiche ecocardiografiche ha stimolato, soprattutto in medicina umana ma anche in veterinaria, uno studio più approfondito della sua funzionalità.

In questo capitolo, verranno approfondite le metodiche ecocardiografiche per la valutazione della sua struttura e funzione, in particolare la metodica TDI (*Tissue Doppler Imaging*), che è stata la metodica su cui ci si è concentrati maggiormente nella parte sperimentale.

3.7 Valutazione morfofunzionale del ventricolo destro mediante ecocardiografia 2D

Mentre in medicina umana sono disponibili dei range fisiologici per la valutazione delle dimensioni cardiache del settore destro, in medicina veterinaria la valutazione del ventricolo destro è essenzialmente di tipo soggettivo.

Le dimensioni del ventricolo destro vengono valutate attraverso una proiezione parasternale sinistra apicale a quattro camere ottenuta a fine diastole. In questa proiezione, in medicina umana viene suggerito di confrontare il ventricolo destro con le dimensioni del ventricolo sinistro: il primo non dovrebbe superare i $2/3$ delle dimensioni del secondo; l'apice cardiaco, inoltre, deve essere sempre a carico del ventricolo sinistro (Rudski L.G. et al, 2010).

Se uno di questi elementi risulta alterato, può essere sospettata la presenza di insufficienza tricuspidalica, insufficienza polmonare e ipertensione polmonare (Boon, 2011).

E' possibile comunque effettuare anche delle misurazioni che hanno un'utilità soprattutto per un confronto con gli studi successivi sul singolo soggetto: nella medesima proiezione apicale viene misurata la larghezza a livello di anulus tricuspidalico e a metà del ventricolo; la lunghezza viene invece misurata dall'anulus tricuspidalico all'apice.

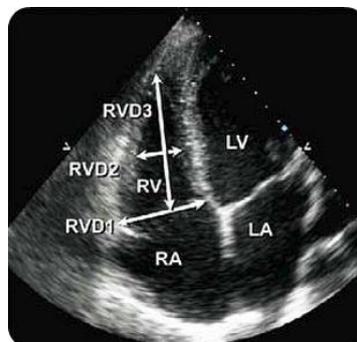


Fig. 3.8 Misurazioni del ventricolo destro dalla proiezione parasternale sinistra apicale ottimizzata per il ventricolo destro. Da Rudski et al, 2010.

Lo spessore della parete viene solitamente valutato nella proiezione parasternale destra in asse lungo a quattro camere, e deve essere di norma da 1/3 a 1/2 dello spessore della parete libera del ventricolo sinistro. Un suo aumento suggerisce la presenza d'ipertrofia del ventricolo destro (Boon, 2011).

Nel momento in cui la pressione diastolica del ventricolo destro supera quella del ventricolo sinistro, si rende evidente un progressivo appiattimento del setto interventricolare ed un movimento paradossale di questo.

Il problema fondamentale della valutazione della disfunzione sistolica del ventricolo destro a partire dallo studio bidimensionale è legato alla sua geometria complessa, che impedisce un calcolo del volume e della frazione di eiezione accurato. Il ventricolo destro, infatti, non è ascrivibile come il ventricolo sinistro ad alcuna figura geometrica, di conseguenza non esistono formule per il calcolo del volume a partire da misurazioni bidimensionali.

L'ecocardiografia 3D ovvierebbe a tale problema, ma è applicabile ancora solo a scopo sperimentale.

Di conseguenza anche la valutazione della funzionalità sistolica del ventricolo destro risulta piuttosto difficoltosa ed in medicina umana sono stati sviluppati alcuni parametri bidimensionali finalizzati ad oggettivare ed a fornire degli indici di contrattilità.

Tra questi, quello maggiormente utilizzato in ambito clinico in medicina umana è rappresentato dalla misurazione dell'escursione sistolica dell'anulus tricuspidalico verso l'apice (TAPSE o *tricuspid anular plane systolic excursion*) Questo indice rappresenta un buon metodo di valutazione della contrazione longitudinale, ed è stata dimostrata una buona correlazione con le tecniche che valutano la funzione globale sistolica del ventricolo destro. Si ottiene posizionando il cursore M-mode sulla porzione laterale dell'anulus tricuspidalico in una proiezione parasternale sinistra apicale a quattro camere (fig. 3.9).

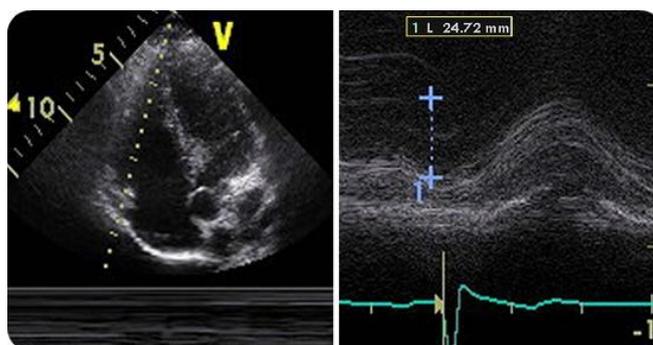


Fig. 3.9 Misurazione dell'escursione sistolica del piano dell'anulus tricuspidalico (TAPSE). Da Rudski et al, 2010

La funzione ventricolare destra viene quantificata in medicina umana anche attraverso il calcolo della FAC (*fractional area change*), ottenuta attraverso la formula $\text{area a fine diastole} - \text{area a fine sistole} / \text{area a fine diastole} \times 100$, ma tale indice è risultato essere molto meno accurato (Rudski et al, 2010).

3.8 Valutazione funzionale del ventricolo destro mediante metodica Doppler tradizionale

3.8.1 Flusso transtricuspidalico

Il flusso transtricuspidalico viene valutato in maniera ottimale attraverso una proiezione parasternale sinistra apicale in asse lungo ottimizzata per il ventricolo destro.

La valutazione mediante Doppler a codice di colore evidenzia l'eventuale presenza di rigurgito tricuspidalico, ma la valutazione della gravità mediante la misurazione dell'area del jet di rigurgito è più difficile e meno affidabile rispetto al rigurgito mitralico.

Lo studio mediante la metodica Doppler spettrale pulsato mostra un profilo del flusso che è, al pari di quello transmitralico, costituito da un'onda E, relativa al riempimento rapido ventricolare e da un'onda A associata alla contrazione atriale. In condizioni di normalità la velocità dell'onda E è maggiore a quella dell'onda A (fig. 3.10).

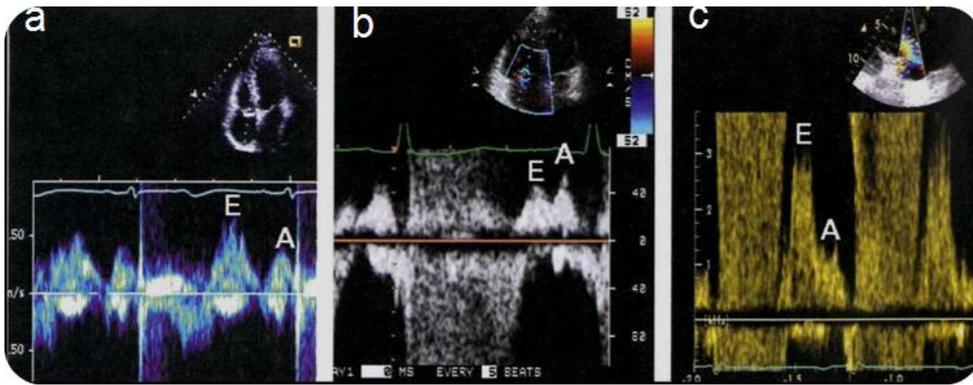


Fig. 3.10 Profilo delle velocità del flusso transtricuspidalico normale (A), in condizioni di rilasciamento compromesso, in cui le onde appaiono invertite ($E/A < 1$) (B) e in condizioni di riempimento restrittivo, in cui l'onda E appare molto più alta della A (C). Da Nagueh, 2008

Le velocità del flusso transtricuspidalico sono più basse di quello transmitralico, probabilmente a causa dei diversi gradienti pressori atrio-ventricolari dei due comparti (Boon, 2011).

L'inspirazione aumenta le velocità di picco delle due onde, in particolare dell'onda E, di conseguenza il rapporto E:A aumenta con l'inspirazione e diminuisce con l'espiazione (Boon, 2011).

Dopo l'onda A può apparire, in sistole, un'ulteriore onda positiva, legata al movimento dell'anulus tricuspidalico verso lo sterno successivamente alla chiusura della valvola, che spinge il sangue verso il trasduttore a diastole conclusa (Boon, 2011).

Le misurazioni effettuabili sul flusso transtricuspidalico valutano la velocità di picco dell'onda E, dell'onda A, il tempo di decelerazione dell'onda E (DT), la durata dell'onda A, il rapporto E/A ed il VTI (integrale velocità-tempo) delle due onde.

In generale, in condizioni di disfunzione diastolica lieve, o alterato rilasciamento del ventricolo destro, è stata descritta una riduzione del rapporto E/A. Con l'aumento delle pressioni atriali destre, però, in modo simile alle modificazioni del flusso transmitralico in corso di insufficienza cardiaca, il rapporto E/A torna ad aumentare, con un profilo delle velocità ascrivibile ad un *pattern* di tipo restrittivo (onda E di velocità estremamente aumentata e maggiore della velocità dell'onda A). Tuttavia, la risposta del

singolo individuo è estremamente variabile e dipendente dall'interazione dei diversi parametri emodinamici, come dimostrato dal grafico in fig. 3.11, in cui si nota un'ampia dispersione tra il rapporto E/A

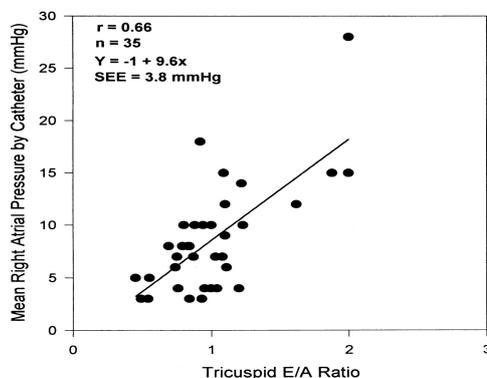


Fig.: 3.11 Relazione tra il rapporto E/A tricuspidalico e la pressione atriale media. Da Nagueh et al. 1996

della tricuspide e la pressione atriale media destra misurata tramite cateterismo cardiaco (Nagueh et al, 1996).

Il flusso polmonare può essere rilevato attraverso una proiezione parasternale destra in asse corto a livello della valvola aortica; attraverso questa finestra, infatti, si ottiene un ottimo allineamento del fascio ultrasonoro all'emergenza dell'arteria polmonare.

Una prima valutazione può essere effettuata mediante la tecnica Doppler a codice di colore. Un lieve rigurgito polmonare può essere considerato un comune reperto ecocardiografico nei cani sani. La valutazione della lunghezza e dell'area del jet di rigurgito è di scarsa utilità, avendo questi parametri una scarsa correlazione con la gravità del rigurgito (Boon, 2011).

Mediante la metodica Doppler spettrale pulsato, il flusso polmonare appare negativo in quanto si allontana dal trasduttore. Il suo profilo in condizioni normali è quasi simmetrico, dato che i tempi di accelerazione e di decelerazione sono simili e la massima velocità viene raggiunta circa a metà del periodo d'eiezione (fig. 3.10) (Boon, 2011).

Questa risulta essere, nel cane, solitamente al di sotto dei 130 cm/sec, quindi più bassa rispetto alla velocità del flusso aortico (Boon, 2011)

Il flusso polmonare è caratterizzato da un periodo d'eiezione più lungo e da un più breve periodo di pre-eiezione, a causa del minor postcarico a cui deve far fronte il ventricolo destro.

Anche qua è importante l'influenza del ciclo respiratorio sul profilo del flusso: un aumento del ritorno venoso in seguito all'atto inspiratorio porta ad un conseguente aumento della velocità del flusso polmonare. Inoltre, la velocità varia in maniera direttamente proporzionale alla frequenza cardiaca.

Le misurazioni che possono essere effettuate sul flusso polmonare sono la velocità di picco, il tempo di accelerazione (AT), il tempo di eiezione (ET), e l'integrale velocità/tempo (VTI) (fig. 3.12).

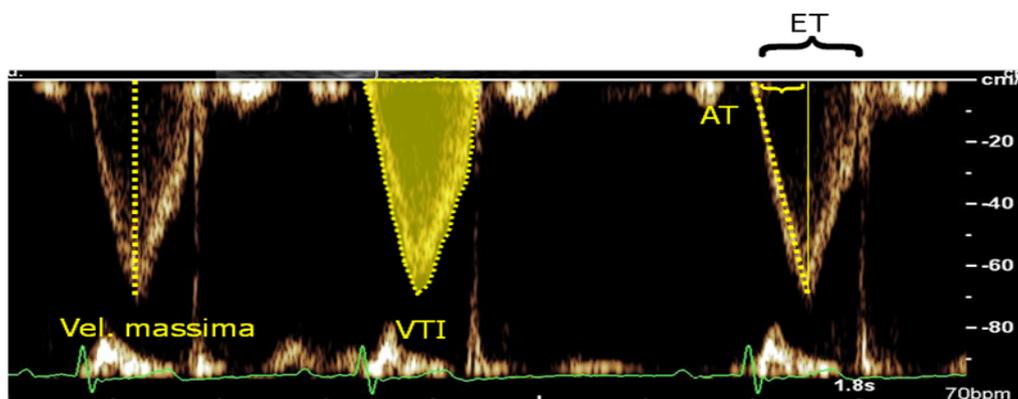


Fig. 3.12 Profilo normale del flusso polmonare (AT: tempo di accelerazione; ET: tempo di eiezione; VTI: integrale velocità-tempo).

3.9 Interpretazione dei profili delle velocità ottenuti mediante metodica TDI

Le misurazioni che possono essere effettuate sulle onde ottenute con la modalità PW TDI, oppure tramite un'analisi off-line di un studio con modalità TDI a codice di colore, sono: la velocità di picco dell'onda S_a , e' e a' , il tempo di contrazione e di rilasciamento isovolumetrico, il rapporto tra le velocità delle due onde diastoliche (e'/a') ed il rapporto tra la velocità

dell'onda E misurata col Doppler pulsato tradizionale e quella dell'onda E misurata col Doppler tissutale (E/e').

Secondo gli studi fino ad ora eseguiti, la metodica TDI applicata al ventricolo destro è un valido metodo per quantificare il suo grado di disfunzione sistolica e diastolica.

Per quanto riguarda la valutazione della disfunzione sistolica, studi in medicina umana hanno dimostrato una buona correlazione tra la velocità sistolica S_a dell'anulus tricuspidalico misurata mediante TDI a Doppler pulsato e la frazione d'eiezione del ventricolo destro misurata mediante angiografia a radionuclidi. In particolare, velocità inferiori a 11,5 cm/s sono predittive di disfunzione del ventricolo destro con una sensibilità del 90% e una specificità dell'85% (Meluzin et al, 2001).

Nei soggetti con una disfunzione diastolica del ventricolo destro, invece, è stata studiata una riduzione della velocità dell'onda e' tricuspidalica e del rapporto e'/a' (Nagueh, 2008).

Inoltre, il rapporto E/e', tra la velocità dell'onda E transtricuspidalica e la velocità e' dell'anulus tricuspidalico, è risultato, nell'uomo, essere un indice piuttosto accurato del grado delle pressioni atriali medie, calcolate mediante cateterismo cardiaco (Nagueh, 2008).

Anche in medicina veterinaria è stata applicata con ottimi risultati la metodica TDI allo studio del ventricolo destro in corso di patologie come l'ipertensione polmonare, la cardiomiopatia dilatativa e la cardiomiopatia ipertrofica nel gatto (Chetboul, 2010).

Tuttavia, non sono mai stati effettuati studi con questa metodica volti a valutare la funzionalità del ventricolo destro in corso di malattia mitralica cronica.

3.10 MATERIALI E METODI

Introduzione

Il presente studio multicentrico nasce dalla collaborazione tra il Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna ed il Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie dell'Università di Padova. I due centri hanno partecipato in modo equiparato alla raccolta di dati clinici relativi ad una popolazione di cani affetti da malattia mitralica cronica spontanea.

Lo scopo dello studio è stato di valutare in modo prospettico la presenza di disfunzione sisto-diastolica del ventricolo destro tramite parametri ecocardiografici impiegati nella pratica clinica specialistica cardiologica. Ci si è preposti, inoltre, di studiare in modo non invasivo la correlazione tra la funzionalità ventricolare destra e ventricolare sinistra nel cane, sulla base del meccanismo dell'interdipendenza miocardica.

Tale tipo di analisi, in parte condotta in medicina umana, non è ancora mai stata studiata nella specie canina ed il presente lavoro ha lo scopo, perciò, di approfondire in maniera inedita le sopracitate tematiche.

Criteri di inclusione

Sono stati valutati in maniera prospettica tutti i cani riferiti per visita cardiologica presso i due centri sopraindicati nell'arco di tempo compreso tra Gennaio 2010 e Gennaio 2012, con diagnosi di malattia mitralica cronica.

Tale diagnosi si è basata sui reperti clinici (soffio sistolico percepito a sinistra a livello di apice cardiaco, eventuali segni di insufficienza cardiaca congestizia) ed ecocardiografici (ispessimento e/o prollasso dei lembi mitralici e/o rigurgito mitralico da lieve a grave rilevato mediante metodica Doppler a codice di colore).

Per ogni singolo soggetto sono stati registrati il segnalamento, la storia della malattia con l'eventuale terapia in atto, i reperti clinici emersi dall'esame obiettivo generale e dall'esame obiettivo particolare dell'apparato cardiocircolatorio. Una particolare attenzione è stata dedicata alla valutazione di eventuali segni d'insufficienza cardiaca destra come ascite o alterazioni dell'esame delle vene giugulari.

Per quanto riguarda gli esami strumentali inseriti nel protocollo, ogni cane è stato sottoposto ad esame elettrocardiografico e, se presenti segni clinici di insufficienza cardiaca congestizia come tosse, dispnea o intolleranza all'esercizio, ad esame radiografico del torace. Si è poi proceduto con un esame ecocardiografico standard completo e con metodica Doppler tissutale (TDI).

La valutazione elettrocardiografica è stata effettuata posizionando i cani in decubito laterale destro, mediante la registrazione di 12 derivate (6 derivate standard e 6 derivate toraciche precordiali) mediante l'apparecchio Cube ECG (*Cardioline S.p.A. Cavareno (TN), Italy*). I tracciati elettrocardiografici sono stati poi analizzati per escludere la presenza di aritmie non sinusali o di disturbi del ritmo.

L'esame radiografico del torace è stato effettuato mediante l'esecuzione di due proiezioni ortogonali, dorso-ventrale e latero-laterale destra, per la ricerca di segni di insufficienza cardiaca congestizia (cardiomegalia associata a congestione delle vene polmonari e pattern alveolare in regione perilare).

E' stato poi reclutato un gruppo di controllo con caratteristiche di omogeneità rispetto alla popolazione dei soggetti inclusi nello studio. Per la selezione di questi animali sono stati quindi posti come criteri d'inclusione l'età (cani con più di 2 anni) ed il peso (cani al di sotto dei 25 kg). I cani sono stati giudicati esenti da malattie sistemiche e cardiache sulla base di un esame clinico completo, e privi di un soffio cardiaco sistolico o di un *click* mesosistolico all'auscultazione cardiaca. I cani sono, inoltre, stati sottoposti ad esame elettrocardiografico di superficie a 12 derivate e ad esame ecocardiografico transtoracico secondo procedura standard. Le

dimensioni delle camere cardiache e delle pareti ventricolari sono state considerate normali in base a test di misurazione logaritmica, allometrica o esponenziale come da letteratura (Gonçalves et al, 2002; Brown et al, 2003; Cornell et al 2004) o, quando presenti, in relazione a valori di normalità razza specifica.

La suddivisione della popolazione in 4 classi si è basata sullo schema di classificazione proposto dall'American College of Veterinary Internal Medicine nel 2009 (Atkins et al, 2009).

I cani sani sono stati inseriti in una classe di normalità arbitrariamente denominata H (*healthy*) al fine di condurre la successiva analisi statistica. I soggetti affetti dalla patologia mitralica, che non avevano però ancora sviluppato segni clinici, sono stati raggruppati nelle due classi B1 e B2, a seconda della presenza o meno di rimodellamento cardiaco valutato mediante ecocardiografia. In particolari, i soggetti inclusi nella classe B1 presentavano un rapporto atrio sinistro aorta (As/Ao) minore di 1,7 ed un volume tele diastolico del ventricolo sinistro indicizzato sulla superficie corporea (EDVi) minore di 100 ml/mq, mentre quelli inclusi in classe B2 avevano un rapporto As/Ao maggiore di 1,7 e un EDVi maggiore di 100 ml/mq.

I soggetti affetti dalla patologia con segni ecocardiografici di rimodellamento cardiaco (rapporto As/Ao maggiore di 1,7 e EDVi maggiore di 100 ml/mq) e con segni radiografici di insufficienza cardiaca congestizia sono stati inclusi nella classe C (scompensati), mentre nella classe D sono stati inclusi i cani in stadio avanzato della malattia divenuti refrattari alla terapia standard.

La popolazione dello studio è stata poi ulteriormente divisa in tre gruppi (1, 2, 3). Nel gruppo 1 sono stati inclusi i cani in cui non è stato possibile stimare la pressione in arteria polmonare a causa dell'assenza di rigurgito tricuspidalico o polmonare. Nel gruppo 2, sono stati inclusi tutti i cani privi di ipertensione polmonare, ossia i cani del gruppo di controllo e quelli affetti da malattia mitralica cronica con una velocità di rigurgito tricuspidalico inferiore a 2,8 m/s. Nel gruppo 3 sono stati inclusi, invece,

tutti i cani con ipertensione polmonare, attestata mediante ecocardiografia in base al ritrovamento di una velocità di rigurgito tricuspidalico maggiore di 2,8 m/s.

Acquisizione e analisi dei dati

Le valutazioni ecocardiografiche sono state effettuate da due operatori, impiegando nel centro di Bologna un ecografo Philips iU22 (Philips Medical Systems, Monza, Italy) equipaggiato con sonda *phased array* (S5-1 MHz) e nel centro di Padova un ecografo Zone Ultra (Zonare, Mountain View, California) equipaggiato con sonda *phased array* p4-1c (5-1 MHz). Queste valutazioni si sono composte di uno studio bidimensionale (2D), di uno studio monodimensionale (M-mode), di uno studio mediante metodica Doppler spettrale e a codice di colore e mediante Doppler Tissutale Pulsato (PW TDI). Tutte le misurazioni effettuate sono state mediate su 3 cicli cardiaci consecutivi.

Lo studio bidimensionale è stato effettuato attenendosi alle linee guida pubblicate dall' *American College of Veterinary Internal Medicine* per una corretta e uniforme esecuzione delle scansioni ecocardiografiche, sui cani non sedati, posizionati in decubito laterale destro e sinistro su un apposito tavolo dotato di foro centrale e contenuti manualmente (Thomas et al, 1993).

In ogni cane, sono state ottenute le misurazioni M-mode dei diametri ventricolari telediastolici e telesistolici sinistri (LVIDd e LVIDs), utilizzando una proiezione parasternale destra in asse corto a livello dei muscoli papillari (fig. 3.13a).

Da queste misurazioni, oltre il valore percentuale della frazione d'accorciamento (FS%), sono stati calcolati i volumi telediastolici (EDV) e telesistolici (ESV) del ventricolo sinistro col metodo di Teicholz, che a loro volta sono stati indicizzati con l'area di superficie corporea, per ottenere i valori EDVi ed ESVi, espressi in ml/mq. Questi due importanti indici hanno poi permesso di calcolare anche il valore percentuale della frazione

d'iezione (FE%), sempre tramite metodo Teicholz. Le dimensioni dell'atrio sinistro e dell'aorta sono state misurate dall'immagine bidimensionale ottenuta da una proiezione parasternale destra in asse corto a livello della valvola aortica, ed è stato calcolato il rapporto tra queste due misurazioni come descritto in letteratura (fig. 3.13.b) (Rishniw et al, 2000).

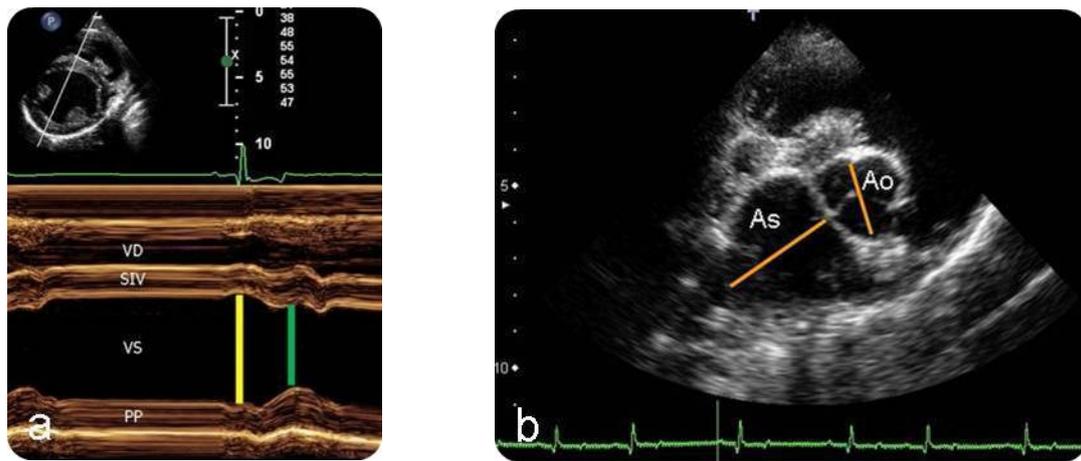


Fig. 3.13 Misurazione del diametro ventricolare telediastolico (riga gialla) e telesistolico (riga verde) sinistro dall'immagine M-mode ottenuta da una proiezione parasternale destra in asse corto a livello dei muscoli papillari (a). Misurazione del rapporto As/Ao da una proiezione parasternale destra in asse corto a livello della valvola aortica (b).VD: ventricolo destro; SIV: setto interventricolare; VS: ventricolo sinistro; PP: parete posteriore del ventricolo sinistro; Ao: aorta; AS: atrio sinistro.

Dalla medesima proiezione è stata registrata mediante metodica Doppler spettrale la velocità di picco del flusso polmonare, per escludere la presenza di stenosi polmonare (velocità di picco sistolico inferiore a 2,2 m/s). Il gradiente pressorio tra ventricolo e atrio destro è stato calcolato applicando alla velocità di picco del rigurgito tricuspidalico, quando presente, valutata attraverso una proiezione parasternale sinistra apicale ottimizzata per il ventricolo destro, l'equazione di Bernoulli modificata [gradiente pressorio = $(4 \times \text{velocità di picco del rigurgito tricuspidalico})^2$] (fig. 3.14).

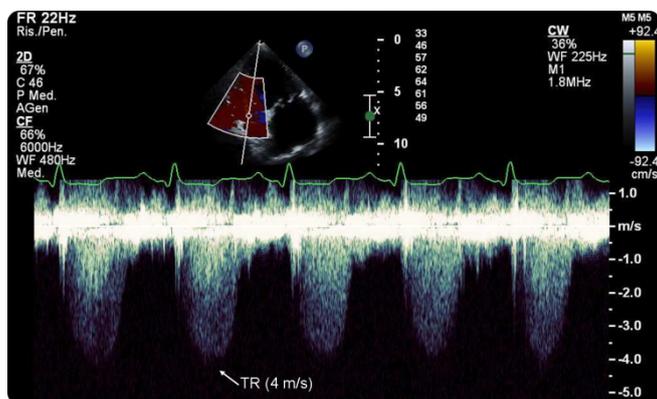


Fig. 3.14 Misurazione della velocità di rigurgito tricuspidalico (TR) mediante la metodica Doppler continuo valutata attraverso una proiezione parasternale sinistra apicale ottimizzata per il ventricolo destro.

Da questa proiezione apicale sono stati valutati anche i profili dei flussi diastolici transmitralici e transtricuspidali, registrando, per entrambi, le velocità di picco delle onde diastolica precoce (E) e diastolica tardiva (A) ed il rapporto E/A.

Lo studio mediante Doppler Tissutale si è composto, in un primo momento, di una valutazione globale mediante la metodica a TDI codice di colore su una proiezione parasternale sinistra apicale a 4 camere.

Successivamente, utilizzando come guida questa proiezione, sempre con una codifica a colori delle velocità miocardiche superimposta all'immagine 2D, è stato posizionato un volume campione di piccole dimensioni (<5 mm) all'interno dello spessore del miocardio a livello di anulus mitralico laterale e settale.

Il TDI pulsato è stato regolato con un frame rate > 170 Hz, un gain colore aggiustato per evitare artefatti da aliasing ed una frequenza di ripetizione dell'impulso (PRF) di 20 cm/s.

Per le registrazioni delle velocità dell'anulus tricuspidalico, sulle quali abbiamo rivolto la maggiore attenzione nell'analisi statistica dei dati, è stata variata leggermente la posizione della sonda, al fine di ottenere una proiezione parasternale sinistra apicale ottimizzata per il ventricolo destro, facendo in modo che il fascio ultrasonoro fosse il più parallelo possibile alla direzione del movimento longitudinale dell'anulus tricuspidalico. Il volume campione è stato poi posto nello spessore della parete ventricolare destra marginale a livello del punto di attacco della cuspidi angolare della valvola tricuspide (fig. 3.15)

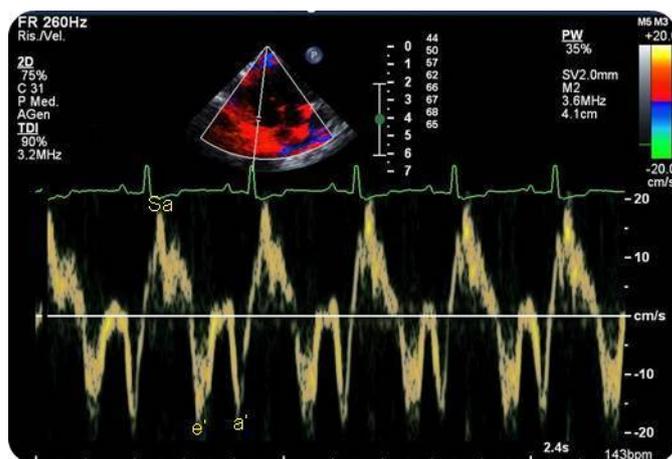


Fig. 3.15 Profilo delle velocità dell'anulus tricuspidalico di un soggetto incluso nella popolazione di studio.

Su tutti i profili ottenuti da queste 3 registrazioni (PW TDI mitrale laterale, settale e tricuspide) sono state effettuate a posteriori le misurazioni delle velocità, mediate su 3 cicli cardiaci consecutivi. Per tali misurazioni è stato utilizzato il software presente sullo stesso ecografo.

Sono state quindi misurate, per ogni profilo, le velocità dell'onda Sa, e', a'. Sono stati inoltre calcolati i rapporti e'/a' e E/e'.

Tutti questi dati sono stati infine riportati in un foglio elettronico di Microsoft Excel (Microsoft Office 2003, Microsoft Corporations, Bellevue, WA) per essere sottoposti ad analisi statistica.

Criteri di esclusione

Sono stati esclusi dalla popolazione di studio i cani con concomitante malattia cardiaca congenita, e quelli che, all'esame elettrocardiografico mostravano aritmie persistenti, come ad esempio la fibrillazione atriale e tachicardie sopraventricolari o ventricolari.

Sono stati esclusi, inoltre, i cani in cui non era possibile effettuare una misurazione precisa delle velocità rilevate mediante PW per la bassa qualità delle acquisizioni, dovuta per esempio a movimenti improvvisi dell'animale oppure ad una frequenza cardiaca troppo alta che comportava la fusione delle due onde diastoliche E, A, e' ed a'.

Analisi statistica

I dati di statistica descrittiva sono espressi come *least square means* (LSMeans) \pm errore standard della media (SEM). La distribuzione normale dei valori ecocardiografici è stata testata utilizzando un test Shapiro-Wilks. Una volta accertata la normale distribuzione dei dati, si è impiegato un test ANOVA per confrontare i valori tra i differenti gruppi di insufficienza cardiaca e di pressione dell'arteria polmonare. Quando necessario si è proceduto ad una post-analisi utilizzando un T-test con correzione di Bonferroni.

La presenza o meno di correlazione tra i parametri ecocardiografici TDI del ventricolo destro con i valori ecocardiografici standard e TDI del ventricolo sinistro, e con le pressioni dell'arteria polmonare sono stati analizzati impiegando un test di Pearson. Il livello di correlazione è espresso come dato R^2 .

La capacità di alcuni parametri ecocardiografici nel predire la presenza di ipertensione polmonare è stata valutata attraverso l'analisi di curve ROC (Receiver Operating Characteristic), scegliendo il valore con miglior equilibrio tra sensibilità (Se) e specificità (Sp).

I test sono stati considerati significativi per un valore di $p < 0.05$, e quando presente indicando il grado di correlazione come $p < 0.01$ o $p < 0.001$.

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando un *software* dedicato (SAS, versione 9.2).

3.11 RISULTATI

Popolazione dello studio

Sono stati inseriti nello studio un numero complessivo di 114 cani (77 valutati presso il Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna e 37 presso il Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie dell'Università di Padova).

Di questi, 86 erano affetti da malattia mitralica cronica, mentre i restanti 28 cani sono stati inseriti nel gruppo di controllo di animali sani.

In tabella 2 sono state riportate le razze più rappresentate per ogni classe.

Variabile	Classe H	Classe B1	Classe B2	Classe S
Numero di soggetti	28	36	28	22
Età (anni)	6,1 ± 3,4	9,6 ± 3,8	11,1 ± 2,2	12 ± 1,6
Peso (kg)	13,1 ± 7,3	11,1 ± 6,2	9,3 ± 5,8	8,1 ± 4
Sesso (m/f)	11/17	20/16	16/12	14/8
Razze	Meticci (10)	Meticci (17)	Meticci (15)	Meticci (11)
	Cocker S. (5)	Yorkshire Terrier, CKCS (3)	Barboncini, Maltesi, Shih-tzu (2)	Barboncini, Yorkshire Terrier, Pinscher (2)
	Maltesi, Amstaff (2)	Barboncini, Epagneul Breton, Setter inglesi, Bassotti tedeschi (2)	Altre razze (7)	Altre razze (5)
	Altre razze (9)	Altre razze (5)		

Tabella 2 Caratteristiche demografiche dei 114 cani inclusi nello studio. (classe H: gruppo di controllo; classe B1: cani asintomatici senza rimodellamento cardiaco; classe B2, cani asintomatici con rimodellamento cardiaco; classe S, scompensati)

La classe H (gruppo di controllo) è risultata essere composta da 28 soggetti, di cui 8 maschi interi e 3 castrati, 13 femmine intere e 4 sterilizzate, con un'età media di 6,1 anni e un peso medio di 13,1 kg.

Nella classe B1 (cani asintomatici senza rimodellamento cardiaco) sono stati invece inclusi 36 soggetti, di cui 18 maschi interi e 2 castrati, 10 femmine intere e 6 sterilizzate, con un età media di 9,6 anni e un peso medio di 11,1 kg.

La classe B2 (cani asintomatici con rimodellamento cardiaco) è risultata essere composta da 28 soggetti, di cui 13 maschi interi e 3 castrati, 6 femmine intere e 6 sterilizzate, con un età media di 11,1 anni e un peso medio di 9,3 kg.

Poiché in classe D (cani con malattia mitralica cronica protratta e refrattaria alla terapia standard) sono stati reclutati soltanto 2 soggetti, si è deciso, ai fini dell'analisi statistica, di unire questo gruppo ai cani in classe C (cani con malattia mitralica cronica e segni clinici e radiografici di insufficienza cardiaca congestizia). Tale gruppo di animali è stato definito arbitrariamente come classe S (scompensati) ed è costituito da 22 soggetti, di cui 13 maschi interi e 1 castrato, 4 femmine intere e 4 sterilizzate, con un età media di 12 anni e un peso medio di 8,1 kg.

L'intera popolazione dello studio è stata a sua volta suddivisa anche in un gruppo 1 (pressione in arteria polmonare non definita per assenza di rigurgito tricuspidalico) composto da 12 soggetti, in un gruppo 2 (cani senza ipertensione polmonare) composto da 54 soggetti e in un gruppo 3 (cani con ipertensione polmonare) composto da 48 soggetti.

Differenze statistiche delle variabili ecocardiografiche standard e TDI tra le classi H, B1, B2 e S

I risultati relativi alle differenze statistiche per le differenti variabili ecocardiografiche standard e TDI tra le classi H, B1, B2 e S in cui è stata primariamente suddivisa la popolazione di studio sono riportati in tabella 3.

Variabili ecocardiografiche	Classe H (n = 28)	Classe B1 (n = 36)	Classe B2 (n = 28)	Classe S (n = 22)
Standard				
La (cm)	2,5 ± 0,1	2,6 ± 0,1	3 ± 0,1^{*,§}	3,3 ± 0,1^{***,§§§}
Ao (cm)	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1
La/Ao	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1^{*,§§§}	2,1 ± 0,1^{***,§§§,###}
EDVi (ml/mq)	82,1 ± 10,8	84 ± 9,1	127,3 ± 9,9^{*,§§§}	173,8 ± 11,3^{***,§§§,###}
ESVi (ml/mq)	29,1 ± 3,2	26,4 ± 2,7	31,2 ± 2,9	35,5 ± 3,4[§]
FS (%)	36,4 ± 2	39,2 ± 1,7	44 ± 1,8[†]	47,8 ± 2,1^{***,§§§}
FE (%)	64,3 ± 2,6	67,7 ± 2,2	74,2 ± 2,4[†]	77,6 ± 2,7^{*,§§}
PV (cm/s)	87 ± 5,2	98 ± 4,6	95,2 ± 4,9	88,4 ± 5,6
TR vel (cm/s)		257 ± 16,5	271,7 ± 16	306,8 ± 18^{§§,†}
RA-to-RV (mmHg)		26,5 ± 4,3	30,6 ± 4,2	40,3 ± 4,7^{§§,†}
MV E (cm/s)	82,8 ± 6,5	81,3 ± 5,5	103,6 ± 6^{§§}	139,5 ± 6,9^{***,§§§,###}
MV A (cm/s)	70,6 ± 5,9	68,2 ± 5	81,7 ± 5,4	85,2 ± 6,2[§]
MV E/A	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,7 ± 0,1^{*,§§,##}
TV E (cm/s)	57 ± 3,9	59,2 ± 3,4	56,6 ± 3,8	65,2 ± 4,1
TV A (cm/s)	49,4 ± 4,1	50,9 ± 3,5	53,2 ± 3,9	56,9 ± 4,3
TV E/A	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1
TDI				
pMV Sa (cm/s)	11,6 ± 0,8	11,4 ± 0,7	12,1 ± 0,7	12,7 ± 0,8
pMV e' (cm/s)	9,8 ± 0,7	10,4 ± 0,6	12 ± 0,6	13 ± 0,7^{*,§§}
pMV a' (cm/s)	8,5 ± 0,9	10,7 ± 0,8	11,3 ± 0,8	9,8 ± 1
pMV e'/a'	1,3 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,5 ± 0,1^{§,†}
pMV E/e'	8,7 ± 0,8	8 ± 0,7	8,6 ± 0,7	11,6 ± 0,8^{*,§§§,##}
sMV Sa (cm/s)	9,5 ± 0,7	10,5 ± 0,6	11,8 ± 0,7	12,3 ± 0,8[†]
sMV e' (cm/s)	6,4 ± 0,8	7,9 ± 0,6	9,2 ± 0,7[†]	11,2 ± 0,8^{***,§§§}
sMV a' (cm/s)	8,4 ± 0,7	8,7 ± 0,6	9,1 ± 0,7	8,7 ± 0,8
sMV e'/a'	0,9 ± 0,1	1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,1[†]
sMV E/e'	12,4 ± 1	10,7 ± 0,8	11,6 ± 0,9	13,8 ± 1,1[§]
TV Sa (cm/s)	12,6 ± 1,2	15,8 ± 1	16,2 ± 1,1	16,5 ± 1,3
TV e' (cm/s)	9,4 ± 0,8	10,9 ± 0,7	10,8 ± 0,8	12,3 ± 0,9
TV a' (cm/s)	11,4 ± 1,1	13 ± 0,9	14,6 ± 1	13,1 ± 1,1
TV e'/a'	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	1 ± 0,1
TV E/e'	6,2 ± 0,5	5,6 ± 0,5	5,5 ± 0,5	6,1 ± 0,6

Tabella 3 Variabili ecocardiografiche standard e TDI nel gruppo di controllo (classe H) e nelle tre classi di cani affetti da malattia mitralica cronica (classi B1, B2 e S). I dati sono espressi come least square means (LSMeans) ± errore standard della media (SEM).

In valori in grassetto hanno una differenza statistica espressa dai seguenti simboli:

* P < 0,05 rispetto alla classe H; ** P < 0,01 rispetto alla classe H; *** P < 0,001 rispetto alla classe H

§ P < 0,05 rispetto alla classe B1; §§ P < 0,01 rispetto alla classe B1; §§§ P < 0,001 rispetto alla classe B1

P < 0,05 rispetto alla classe B2; ## P < 0,01 rispetto alla classe B2; ### P < 0,001 rispetto alla classe B2

(La, diametro dell'atrio sinistro; Ao, diametro aortico; EDVi, indice di volume telediastolico; ESVi, indice di volume telesistolico; FS, frazione d'accorciamento; FE, frazione d'eiezione; PV, velocità del flusso polmonare; TR vel, velocità del rigurgito tricuspidalico; RA-to-RV, gradiente pressorio atrio-ventricolare destro; MV E, velocità di picco dell'onda E mitralica; MV A, velocità di picco dell'onda A mitralica; TV E, velocità di picco dell'onda E tricuspidalica; TV A, velocità di picco dell'onda A tricuspidalica; P MV Sa, velocità dell'onda Sa dell'anulus mitralico laterale; P MV e', velocità dell'onda e' dell'anulus mitralico laterale; P MV a', velocità dell'onda a' dell'anulus mitralico laterale; S MV Sa, velocità dell'onda Sa dell'anulus mitralico settale; S MV e', velocità dell'onda e' dell'anulus mitralico settale; S MV a', velocità dell'onda a' dell'anulus mitralico settale; TV Sa, velocità dell'onda Sa dell'anulus tricuspidalico; TV e', velocità dell'onda e' dell'anulus tricuspidalico; TV a', velocità dell'onda a' dell'anulus tricuspidalico)

Dalla tabella si evince che i cani in classe S avevano un atrio sinistro più grande rispetto a quelli del gruppo di controllo, ossia della classe H ($P < 0,001$) ed a quelli in classe B1 ($P < 0,001$); la stessa differenza, ma con un livello di significatività minore ($P < 0,05$), è risultata essere presente tra i soggetti in classe B2 e quelli in classe H e B1.

Il rapporto AS/Ao dei cani in classe S è risultato essere maggiore rispetto a quello dei cani di tutte le altre classi ($P < 0,001$), mentre lo stesso rapporto dei cani in classe B2 era maggiore di quello dei cani in classe H ($P < 0,01$) e dei cani in classe B1 ($P < 0,001$).

Il valore dell'EDVi dei soggetti della classe S è risultato maggiore di quello di tutte le altre tre classe ($P < 0,001$). L'EDVi dei cani in classe B2 differiva poi sia con quello dei cani della classe H ($P < 0,01$) e della classe B1 ($P < 0,001$).

L'ESVi dei cani in classe S, invece, è risultato essere maggiore solo rispetto all'ESVi della classe B1 ($P < 0,05$).

I cani in classe S avevano una frazione d'accorciamento e una frazione d'eiezione significativamente più alta rispetto al gruppo di controllo ($P < 0,001$; $P < 0,01$), e rispetto alla classe B1 ($P < 0,001$; $P < 0,01$). Gli stessi valori dei cani in classe B2 hanno mostrato una differenza significativa invece solo con il gruppo di controllo ($P < 0,05$; $P < 0,05$).

Non sono state ritrovate differenze tra i gruppi per quanto riguarda la velocità del flusso polmonare, mentre la velocità del rigurgito tricuspidalico, e di conseguenza il valore del gradiente pressorio atrio-ventricolare destro, sono risultati essere più alti nella classe S rispetto alle classi B1 ($P < 0,01$) e B2 ($P < 0,05$).

La velocità di picco dell'onda E mitralica della classe S era più alta rispetto a tutte le altre classi ($P < 0,001$), mentre lo stesso valore dei cani in classe B2 differiva solo da quello dei cani in classe B1 ($P < 0,01$).

La velocità dell'onda A aveva delle differenze solo tra la classe S e la classe B1 ($P < 0,05$).

La classe S è risultata caratterizzata da un rapporto tra le velocità E/A del flusso mitralico maggiore rispetto al gruppo di controllo ($P<0,05$), alla classe B1 ($P<0,01$) e alla classe B2 ($P<0,01$).

Per quanto riguarda le variabili ecocardiografiche TDI, sono state ritrovate differenze significative tra le varie classe solo per le velocità dell'anulus mitralico laterale e settale.

La classe S è risultata avere una velocità dell'onda e' dell'anulus mitralico laterale più alta rispetto alla classe H ($P<0,01$) ed alla classe B1 ($P<0,01$), un rapporto e'/a' più elevato rispetto alla classe B1 ($P<0,05$) e B2 ($P<0,05$) ed un rapporto E/e' più elevato rispetto al gruppo di controllo ($P<0,05$), alla classe B1 ($P<0,001$) ed alla classe B2 ($P<0,01$).

Le variabili TDI dell'anulus mitralico settale che hanno mostrato delle differenze significative tra i gruppi sono stati invece la velocità dell'onda Sa, maggiore nei cani della classe S rispetto al gruppo di controllo ($P<0,05$), la velocità dell'onda e', maggiore nei cani della classe S rispetto al gruppo di controllo ($P<0,001$) e rispetto a quelli in classe B1 ($P<0,001$), il rapporto e'/a', maggiore nei cani della classe S rispetto al gruppo di controllo ($P<0,05$) ed il rapporto E/e', maggiore nei cani della classe S rispetto alla classe B1 ($P<0,05$).

Non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra i parametri del flusso tricuspidalico e le variabili TDI del ventricolo destro tra i diversi gruppi di studio.

In fig. 3.16 e 3.17 sono ripostati degli esempi di pattern TDI dell'anulus tricuspidalico riscontrati in due soggetti inseriti nello studio.

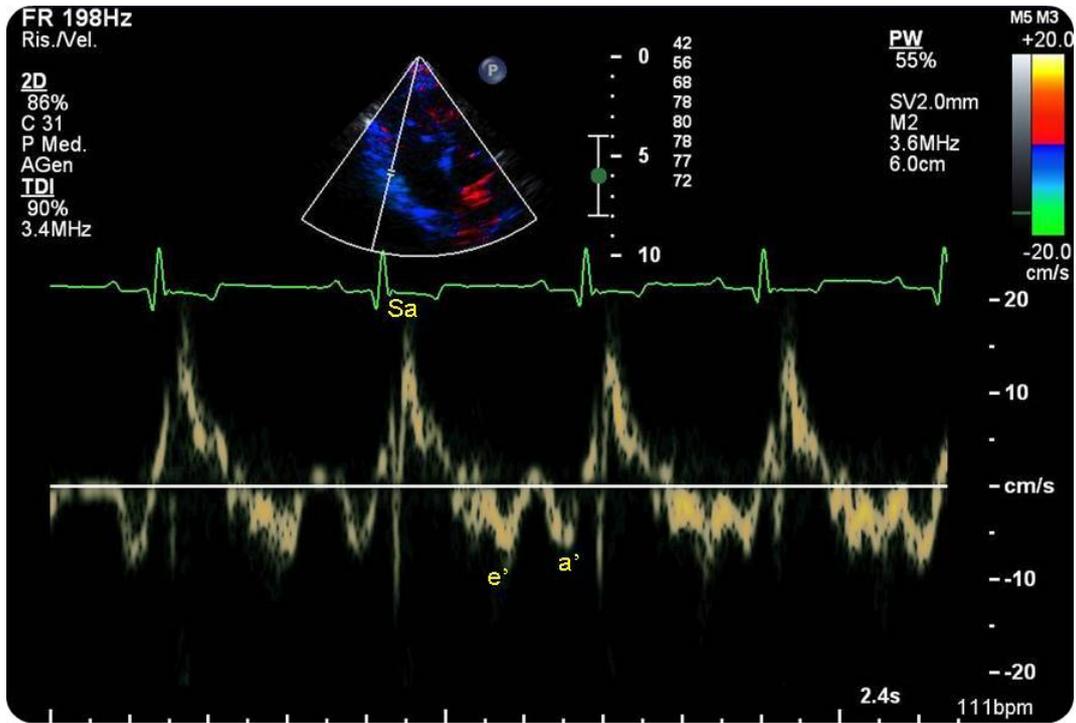


Fig. 3.16 Profilo delle velocità dell'anulus tricuspidalico di un cane del gruppo di controllo (classe H).

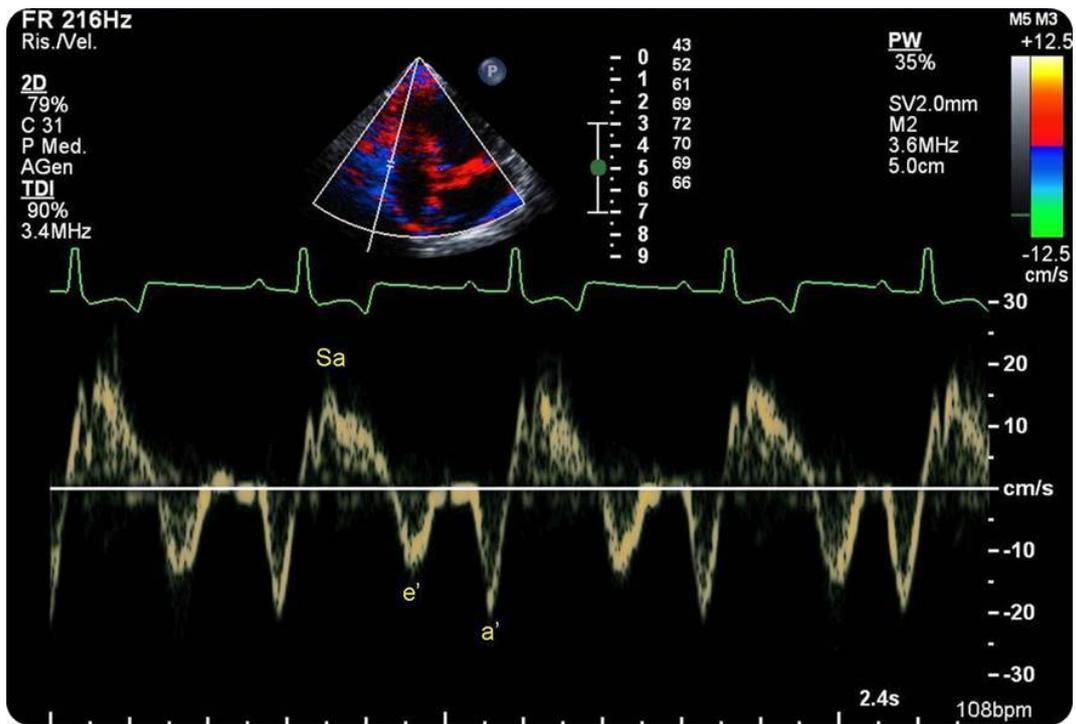


Fig. 3.17 Profilo delle velocità dell'anulus tricuspidalico di un cane di classe B2, in cui si può apprezzare un'inversione del rapporto e'/a' .

Correlazioni tra le variabili ecocardiografiche TDI del ventricolo destro e le variabili ecocardiografiche standard e TDI del ventricolo sinistro

Pur non essendo state verificate delle differenze significative tra le varie classi H, B1, B2 e S per i parametri TDI del ventricolo destro, sono state analizzate le correlazioni di ciascuno di questi parametri (Sa, e', a', e'/a', E/e') con i principali parametri ecocardiografici standard e TDI del ventricolo sinistro. I risultati ottenuti mediante il test di Pearson sono riportati in tabella 4.

Le variabili per cui si è riscontrata una correlazione significativa presentano un valore di $p < 0.05$ e sono state evidenziate in grassetto. Il livello di significatività è espresso come valore R^2 .

Differenze statistiche delle variabili ecocardiografiche standard e TDI tra i gruppi 1, 2 e 3

In tabella 5 sono riportati i risultati relativi alle differenze statistiche tra i 3 gruppi in cui è stata divisa successivamente la popolazione in base alla presenza o meno di ipertensione polmonare.

I cani con ipertensione polmonare (gruppo 3) presentavano una velocità di rigurgito tricuspidalico ed un gradiente pressorio atrio-ventricolare destro maggiori rispetto a quelli privi di ipertensione polmonare (gruppo 2) ($P < 0,001$).

Ancora, questo gruppo è risultato caratterizzato da una velocità di picco dell'onda E transmitralica molto più alta ($115,9 \pm 5,4$ vs $90,2 \pm 4,9$) rispetto al gruppo dei cani privi di ipertensione polmonare ($P < 0,001$).

La velocità di picco dell'onda A è risultata essere maggiore nei soggetti del gruppo 3 rispetto a quelli del gruppo 2 ($P < 0,05$) e minore nei soggetti del gruppo 2 rispetto a quelli del gruppo 1 ($P < 0,05$).

I cani con ipertensione polmonare avevano inoltre un rapporto E/A maggiore rispetto a quelli del gruppo 1.

Variabili Standard	TV Sa		TV e'		TV a'		TV e'/a'		TV E/e'	
	R ²	p	R ²	p						
La	0,262	0,005	0,365	<0,001	0,171	0,072	0,157	0,098	-0,153	0,106
Ao	0,183	0,054	0,161	0,089	0,055	0,565	0,065	0,493	-0,173	0,067
La/Ao	0,090	0,346	0,232	0,013	0,127	0,181	0,105	0,271	0,022	0,820
EDVi	0,201	0,034	0,323	<0,001	0,221	0,019	0,114	0,230	-0,115	0,229
ESVi	0,109	0,252	0,230	0,014	-0,050	0,598	0,286	0,002	-0,170	0,072
FS	0,186	0,050	0,227	0,016	0,399	<0,001	-0,192	0,043	-0,023	0,807
FE	0,160	0,093	0,234	0,013	0,372	<0,001	-0,150	0,116	-0,066	0,490
MV E	0,243	0,010	0,432	<0,001	0,320	0,001	0,114	0,229	-0,165	0,083
MV A	0,196	0,038	0,312	0,001	0,470	<0,001	-0,201	0,034	-0,091	0,339
MV E/A	0,061	0,525	0,171	0,070	-0,111	0,244	0,318	<0,001	-0,049	0,608
TDI										
pMV Sa	0,432	<0,001	0,446	<0,001	0,275	0,005	0,138	0,164	-0,220	0,025
pMV e'	0,236	0,016	0,274	0,005	0,071	0,479	0,227	0,021	0,006	0,951
pMV a'	0,382	<0,001	0,384	<0,001	0,440	<0,001	-0,121	0,221	-0,280	0,004
pMV e'/a'	-0,165	0,095	-0,094	0,344	-0,298	0,002	0,255	0,009	0,189	0,055
pMV E/e'	0,071	0,477	0,277	0,004	0,225	0,022	0,028	0,777	-0,116	0,244
sMV Sa	0,541	<0,001	0,363	<0,001	0,245	0,011	0,055	0,572	-0,087	0,374
sMV e'	0,315	0,001	0,418	<0,001	0,065	0,508	0,342	<0,001	-0,143	0,147
sMV a'	0,327	0,001	0,410	<0,001	0,511	<0,001	-0,195	0,046	-0,249	0,011
sMV e'/a'	0,092	0,355	0,089	0,369	-0,316	0,001	0,468	<0,001	0,010	0,921
sMV E/e'	-0,003	0,980	0,118	0,230	0,299	0,002	-0,170	0,082	-0,005	0,960

Tabella 4 Correlazioni tra le variabili TDI del ventricolo destro e le variabili ecocardiografiche standard e TDI del ventricolo sinistro. Sono evidenziati i valori con $p < 0,05$. I coefficienti di correlazione negativi indicano una correlazione negativa, i positivi una correlazione positiva.

(La, diametro dell'atrio sinistro; Ao, diametro aortico; EDVi, indice di volume telediastolico; ESVi, indice di volume telesistolico; FS, frazione d'accorciamento; FE, frazione d'eiezione; MV E, velocità di picco dell'onda E mitralica; MV A, velocità di picco dell'onda A mitralica; P MV Sa, velocità dell'onda Sa dell'anulus mitralico laterale; P MV e', velocità dell'onda e' dell'anulus mitralico laterale; P MV a', velocità dell'onda a' dell'anulus mitralico laterale; S MV Sa, velocità dell'onda Sa dell'anulus mitralico settale; S MV e', velocità dell'onda e' dell'anulus mitralico settale; S MV a', velocità dell'onda a' dell'anulus mitralico

Variabili ecocardiografiche	Gruppo 1 (n = 12)	Gruppo 2 (n = 54)	Gruppo 3 (n =48)
Standard			
La (cm)	2,7 ± 0,2	2,9 ± 0,1	2,9 ± 0,1
Ao (cm)	1,7 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1
La/Ao	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1
EDVi (ml/mq)	106 ± 12	113 ± 8	132 ± 9
ESVi (ml/mq)	27 ± 4	32 ± 2	33 ± 3
FS (%)	44,4 ± 2,3	39 ± 1,5	42,2 ± 1,6
FE (%)	74,7 ± 3,0	68,2 ± 2	69,9 ± 2,2
PV (cm/s)	99,2 ± 6,2	90,7 ± 4,0	86,6 ± 4,4
TR vel (cm/s)		236,6 ± 15,7	320,4 ± 16,5 ^{§§§}
RA-to-RV (mmHg)		23,1 ± 4,1	41,9 ± 4,3 ^{§§§}
MV E (cm/s)	99,2 ± 7,5	90,2 ± 4,9	115,9 ± 5,4 ^{§§§}
MV A (cm/s)	86,2 ± 6,8	64,7 ± 4,5 [*]	78,4 ± 4,9 [§]
MV E/A	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,1 [*]
TV E (cm/s)	60,9 ± 4,5	59,1 ± 3,1	58,5 ± 3,3
TV A (cm/s)	53,1 ± 4,7	48,8 ± 3,3	55,8 ± 3,4
TV E/A	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,1 ± 0,1
TDI			
pMV Sa (cm/s)	12,1 ± 0,9	11,6 ± 0,6	12,2 ± 0,6
pMV e' (cm/s)	10,5 ± 0,8	11,6 ± 0,5	11,7 ± 0,6
pMV a' (cm/s)	9,7 ± 1,1	10,1 ± 0,7	10,3 ± 0,8
pMV e'/a'	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1
pMV E/e'	9,8 ± 0,9	7,8 ± 0,6	10,1 ± 0,7 ^{§§}
sMV Sa (cm/s)	10,3 ± 0,9	11,6 ± 0,5	11,1 ± 0,6
sMV e' (cm/s)	7,6 ± 0,9	9,5 ± 0,6	8,8 ± 0,7
sMV a' (cm/s)	8,9 ± 0,8	8,2 ± 0,6	9,1 ± 0,6
sMV e'/a'	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1
sMV E/e'	13,4 ± 1,1	9,7 ± 0,8 ^{**}	13,3 ± 0,9 ^{§§§}
TV Sa (cm/s)	15,3 ± 1,4	15,6 ± 0,9	15 ± 1
TV e' (cm/s)	10,6 ± 0,9	11 ± 0,6	10,9 ± 0,7
TV a' (cm/s)	13,4 ± 1,2	12,2 ± 0,8	13,5 ± 0,9
TV e'/a'	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1
TV E/e'	6,1 ± 0,6	5,8 ± 0,4	5,6 ± 0,4

Tabella 5 Variabili ecocardiografiche standard e TDI nei 3 gruppi relativi all'ipertensione polmonare. I dati sono espressi come least square means (LSMeans) ± errore standard della media (SEM). In valori in grassetto hanno una differenza statistica espressa dai seguenti simboli:

* P < 0,05 rispetto al gruppo 1; ** P < 0,01 rispetto al gruppo 1

§ P < 0,05 rispetto al gruppo 2; §§ P < 0,01 rispetto al gruppo 2; §§§ P < 0,001 rispetto al gruppo 2

(La, diametro dell'atrio sinistro; Ao, diametro aortico; EDVi, indice di volume telediastolico; ESVi, indice di volume telesistolico; FS, frazione d'accorciamento; FE, frazione d'eiezione; PV, velocità del flusso polmonare; TR vel, velocità del rigurgito tricuspidalico; RA-to-RV, gradiente pressorio atrio-ventricolare destro; MV E, velocità di picco dell'onda E mitralica; MV A, velocità di picco dell'onda A mitralica; TV E, velocità di picco dell'onda E tricuspidalica; TV A, velocità di picco dell'onda A tricuspidalica; P MV Sa, velocità dell'onda Sa dell'anulus mitralico laterale; P MV e', velocità dell'onda e' dell'anulus mitralico laterale; P MV a', velocità dell'onda a' dell'anulus mitralico laterale; S MV Sa, velocità dell'onda Sa dell'anulus mitralico settale; S MV e', velocità dell'onda e' dell'anulus mitralico settale; S MV a', velocità dell'onda a' dell'anulus mitralico settale; TV Sa, velocità dell'onda Sa dell'anulus tricuspidalico; TV e', velocità dell'onda e' dell'anulus tricuspidalico; TV a', velocità dell'onda a' dell'anulus tricuspidalico.)

Per quanto riguarda le variabili TDI, il rapporto E/e' dell'anulus mitralico laterale è risultato avere una differenza significativa tra i cani con ipertensione polmonare e quelli privi di ipertensione polmonare ($P < 0,01$). Ancora, il rapporto E/e' dell'anulus mitralico settale è risultato essere maggiore nei cani con ipertensione polmonare rispetto a quelli privi di ipertensione polmonare con una significatività ancora più alta ($P < 0,001$). Una differenza significativa è stata rilevata per questo valore anche tra il gruppo dei cani privi di ipertensione polmonare ed il gruppo 1 ($P < 0,01$). Il ritrovamento di una differenza così marcata e significativa tra i soggetti con ipertensione polmonare e quelli privi di ipertensione polmonare dei valori sMV E/e' e pMV E/e' ha spinto ad applicare un'ulteriore analisi statistica con il metodo Pearson, correlando questi 2 rapporti alla stima della pressione in arteria polmonare.

Da questa analisi sono stati ricavati i seguenti grafici di regressione lineare, dai quali si evince un buona correlazione soprattutto tra il rapporto E/e' dell'anulus mitralico settale e la pressione in arteria polmonare stimata a partire dalla velocità del rigurgito tricuspidalico.

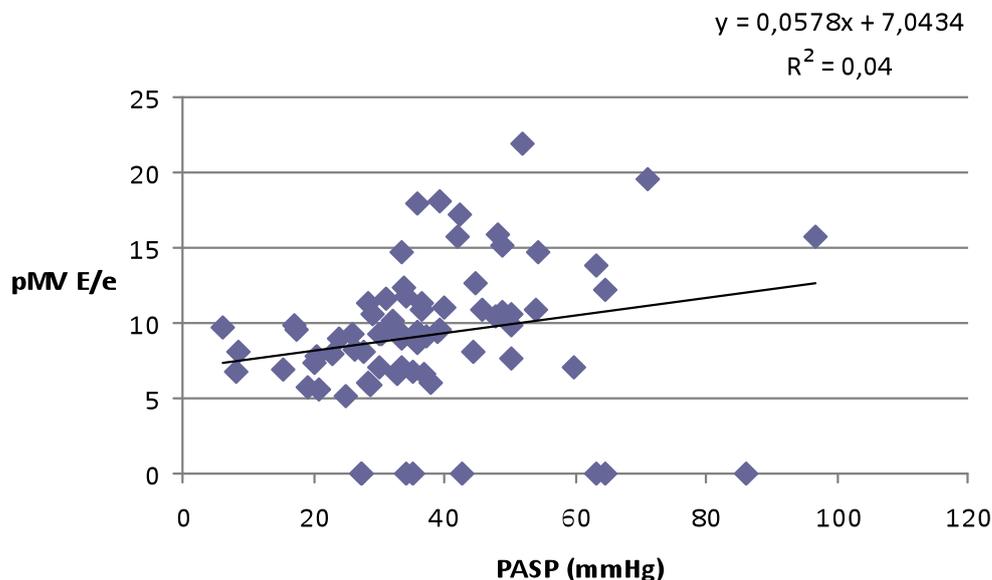


Fig. 3.18 Grafico di regressione lineare che mostra la correlazione tra la stima della pressione in arteria polmonare e l'indice E/e' relativo all'anulus mitralico laterale.

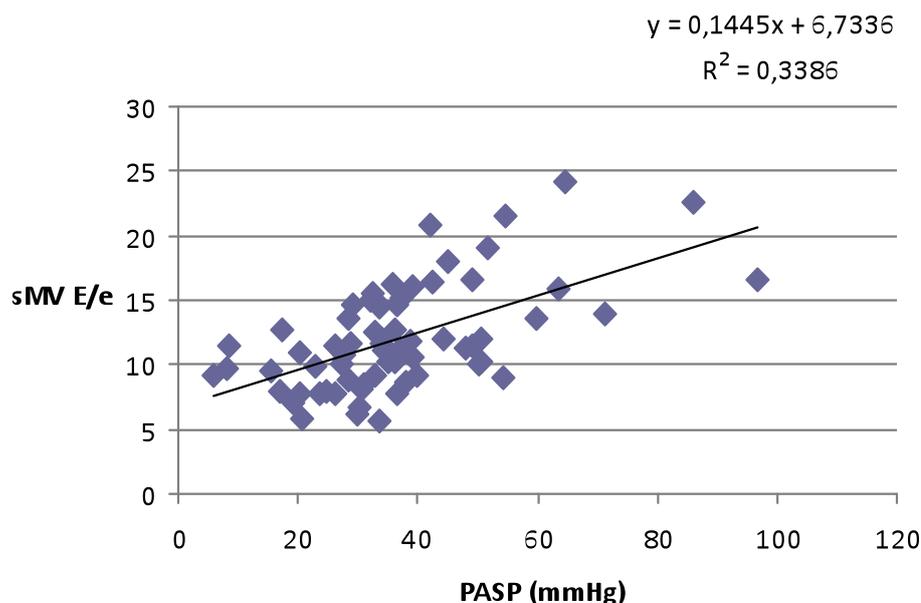


Fig. 3.19 Grafico di regressione lineare che mostra la correlazione tra la stima della pressione in arteria polmonare e l'indice E/e' relativo all'anulus mitralico settale.

In base alle correlazioni riportate, è stata calcolata la sensibilità (Se) e Specificità (Sp) dei valori di sMV E/e' e pMV E/e' nel predire la presenza di ipertensione polmonare.

In particolare per il parametro sMV E/e' un valore di cut-off di 10, mostra la miglior accuratezza nel diagnosticare la presenza di ipertensione polmonare. Valori di Se e Sp simili si hanno quando si attribuisce un valore di 9,3 al parametro pMV E/e' (Tabella 6; Fig. 3.20).

Variabile	AUC ± SE	95% CI	Cutoff	Sensibilità	Specificità	PLR	NLR
sMV E/e'	0,820 ± 0,049	0,713 - 0,900	>5,6	100	0	1,0	NA
			>10*	83,72	70,97	2,88	0,23
			>14,7	37,21	100	NA	0,63
pMV E/e'	0,794 ± 0,052	0,683 - 0,880	>1,8	100	0	1,0	NA
			>9,3*	72,09	80	3,6	0,35
			>11,6	37,21	100	NA	0,63

Tabella 6. Accuratezza diagnostica dei rapporti tra la velocità dell'onda E trans mitralica e la velocità TDI diastolica precoce (e') a livello dei anulus mitralico settale (sMV E/e') e laterale (pMV E/e') nel predire la presenza di ipertensione polmonare in cani sani ed affetti da malattia valvolare cronica. AUC= area sotto la curva CI= Intervallo di confidenza; NA= non applicabile; NLR= Negative likelihood ratio. PLR= Positive likelihood ratio. * Valori con il miglior equilibrio tra sensibilità e specificità

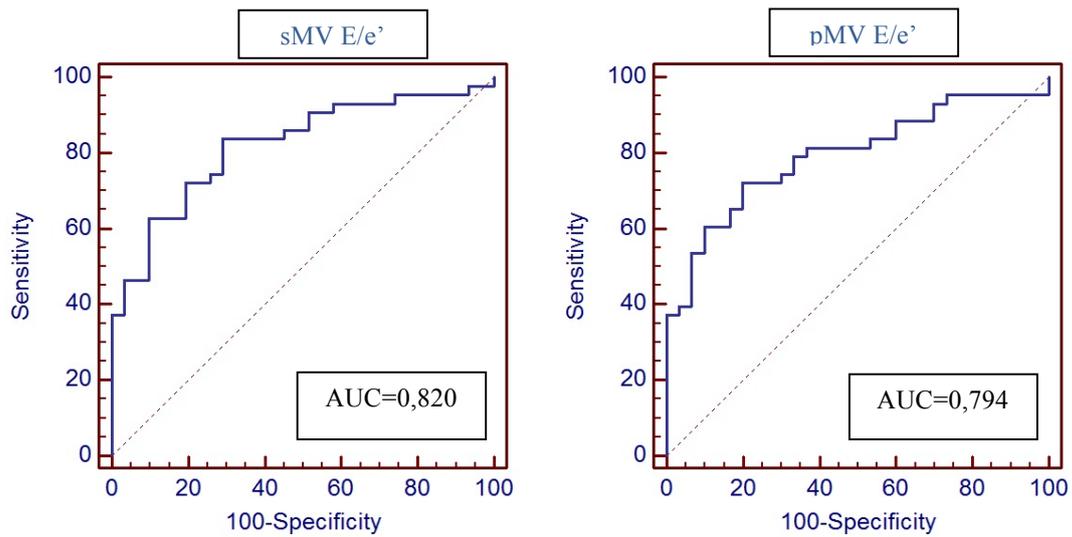


Fig. 3.20 Curva ROC rappresentante l'accuratezza diagnostica dei rapporti tra la velocità dell'onda E trans mitralica e la velocità TDI diastolica precoce (e') a livello dei anulus mitralico settale (sMV E/e')(sinistra) e laterale (pMV E/e')(destra) nel predire la presenza di ipertensione polmonare in cani sani ed affetti da malattia valvolare cronica. Sull'asse delle ordinate è riportata la sensibilità (Sensitivity) calcolata per ciascun valore di cut-off, e sulle ascisse il complemento a 1 della specificità (100-specificity).

3.12 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati più importanti di questa tesi riguardano l'assenza di differenze significative nella disfunzione sisto-diastolica del ventricolo destro in cani con malattia mitralica cronica a diverso stadio; la diretta correlazione tra le variabili TDI di funzionalità del ventricolo destro con il grado di disfunzione del ventricolo sinistro, come indicatori di interdipendenza ventricolare; ed infine il riscontro di una maggior tendenza ad alterazioni diastoliche del ventricolo sinistro in cani con ipertensione polmonare.

Le caratteristiche demografiche della popolazione inclusa in questo studio coincidono con le caratteristiche descritte in letteratura dei cani tipicamente affetti da malattia mitralica cronica (Atkins et al, 2009; Borgarelli et al, 2010). La nostra popolazione di cani con malattia rilevabile (i soggetti inclusi quindi nelle classi B1, B2 e S) è risultata infatti formata da un numero maggiore di soggetti di sesso maschile (58% su un totale di 86 cani) e da cani di piccola taglia come meticci di peso inferiore ai 20 kg (50%), barboncini (7%), Yorkshire Terrier (6%) e Cavalier King Charles Spaniel (5%).

L'età media è risultata progressivamente maggiore nelle 3 classi di insufficienza cardiaca (9,6 anni in classe B1, 11,1 in classe B2, 12 in classe S), a conferma della stretta relazione esistente tra la patologia e lo stato di invecchiamento dell'animale (Borgarelli et al, 2008).

Le variabili ecocardiografiche del ventricolo sinistro hanno mostrato delle chiare differenze statistiche tra le 4 classi analizzate. I risultati riscontrati ricalcano quanto già descritto in altri lavori sul decorso naturale della malattia mitralica cronica nel cane. In particolare, nelle classi d'insufficienza cardiaca più grave abbiamo rinvenuto un progressivo aumento del grado di dilatazione atriale sinistra (espresso come rapporto LA/Ao). Tale parametro, che indica indirettamente il grado di sovraccarico volumetrico cardiocircolatorio ed il livello di attivazione dei meccanismi neuro-ormonali di compenso che vengono stimolati in corso di insufficienza cardiaca congestizia, rappresenta anche l'indice

ecocardiografico indipendente più utile per valutare la gravità della malattia ed il rischio di mortalità (Borgarelli et al, 2008). Direttamente correlati al rapporto LA/Ao, sono il volume telediastolico indicizzato ventricolare sinistro (EDVi) e la velocità di picco dell'onda E transmitralica con il suo rapporto E/A. Tali parametri rappresentano anch'essi il grado di sovraccarico volumetrico cardiaco, e nel nostro studio risultano in progressivo aumento nelle classi di malattia, in accordo con quanto descritto in letteratura (Borgarelli et al, 2008; Borgarelli et al, 2012). Nei soggetti in classe S è stato riscontrato un incremento del valore di volume telesistolico indicizzato del ventricolo sinistro (ESVi) al di sopra di 30 ml/m²; tale dato indica la tendenza alla disfunzione sistolica del ventricolo sinistro che occorre in corso di malattia mitralica soltanto nelle fasi più avanzate di malattia e si associa normalmente ad una scarsa sopravvivenza (Borgarelli et al, 2008).

Per quanto concerne lo studio TDI dell'anulus mitralico (onde Sa, e' e a') abbiamo riscontrato un'analogia di risultato con quanto riportato da Tidholm et al, in un lavoro condotto tramite analisi TDI a codice di colore su una popolazione di cani affetti da malattia mitralica a diverso stadio. In questo lavoro veniva riportato, con l'avanzare della patologia, un aumento delle velocità dell'onda sistolica Sa, dell'onda e' e dei relativi indici e'/a' e E/e' (Tidholm et al, 2009).

Tuttavia, in questa prima analisi statistica non abbiamo provato una particolare compromissione, con l'avanzamento dell'insufficienza cardiaca sinistra, della funzionalità sistolica del ventricolo destro, valutata tramite la velocità sistolica dell'anulus tricuspidalico. In medicina umana è stato dimostrato, a tale proposito, un riduzione della velocità dell'onda Sa tricuspidalica (Meluzin et al, 2001; Dokainish et al, 2007), mentre nel nostro studio non si sono viste differenze significative tra le 3 classi di insufficienza cardiaca e tra queste ed il gruppo di controllo; col progredire dello stadio della malattia, anzi, la media delle velocità aumentava.

Anche la disfunzione diastolica ventricolare destra, valutata dalle velocità del flusso transtricuspidalico, dalle velocità miocardiche dell'anulus

tricuspidalico e dai rapporti e'/a' e E/e' , non ha mostrato le differenze che sono riportate nell'uomo, ossia una diminuzione della velocità dell'onda e' e un aumento del rapporto E/e' (Nagueh, 2008). Questi diversi risultati possono essere collegati al fatto che gli studi in medicina umana, sulla base dei quali abbiamo disegnato il presente lavoro, erano condotti su pazienti affetti prevalentemente da cardiomiopatie ischemiche oppure dilatative idiopatiche, nelle quali si ha fin dai primi stadi una compromissione della funzione sistolica biventricolare. La malattia mitralica cronica del cane, invece, mostra tipicamente un'ipercinesia ventricolare sinistra dovuta all'aumentato precarico e diminuito postcarico, e solo negli stadi più avanzati può esitare in un deficit sistolico (Olsen et al, 2011). Abbiamo infatti verificato come la media delle velocità sia sistoliche che diastoliche aumentasse con il progredire dello stadio della malattia. Vi è poi la possibilità che nei nostri pazienti fosse presente effettivamente una disfunzione ventricolare destra secondaria alla patologia del settore sinistro, ma che le metodiche ecocardiografiche da noi impiegate non fossero sufficientemente sensibili nel rilevarla, perché questa ipoteticamente non influiva in primo luogo sulle velocità longitudinali miocardiche. Inoltre, per quanto standardizzata, la classificazione da noi adottata ha necessariamente comportato la formazione di gruppi più o meno eterogenei, in quanto costituiti arbitrariamente solo in base alla presenza o meno di dilatazione camerale sinistra e di insufficienza cardiaca congestizia, senza prendere in considerazione il grado di disfunzione miocardica e la concomitante presenza di altre situazioni patologiche che possono influire sulla funzionalità del ventricolo destro, come il rigurgito tricuspidalico e l'ipertensione polmonare.

In base a queste considerazioni, abbiamo quindi effettuato un ulteriore studio statistico, che non tenesse conto delle 4 classi in cui era stata divisa la popolazione, ma che valutasse la correlazione di ciascun indice TDI del ventricolo destro con i vari parametri ecocardiografici standard e TDI relativi al ventricolo sinistro, su tutti i 114 cani dello studio, quindi sia quelli del gruppo di controllo sia quelli affetti dalla patologia. Da tale

analisi era evidente una buona correlazione degli indici di funzionalità sia sistolica (velocità dell'onda Sa dell'anulus mitralico settale e laterale con velocità dell'onda Sa dell'anulus tricuspidalico) che diastolica del ventricolo destro con quelli del ventricolo sinistro. Le correlazioni più interessanti, per quanto riguarda i parametri di funzionalità diastolica, sono quelle emerse tra la velocità dell'onda e' dell'anulus tricuspidalico con la medesima onda misurata a livello di anulus mitralico settale, e tra il rapporto e'/a' tricuspidalico con il medesimo rapporto delle velocità misurate a livello dell'anulus mitralico settale, ma vi è comunque una forte correlazione anche tra gli altri indici di funzionalità diastolica dei due ventricoli. Abbiamo quindi dimostrato che la metodica ecocardiografica TDI è in grado di analizzare adeguatamente il fenomeno dell'interdipendenza ventricolare sia di tipo sistolico, mediata soprattutto dal setto e dalle fibre comuni miocardiche, sia di tipo diastolico, mediata soprattutto dal pericardio e ancora dal setto (Santamore et al, 1998). Di conseguenza, sia la presenza di disfunzione sistolica che di sovraccarico volumetrico e conseguente disfunzione diastolica del ventricolo sinistro si ripercuotono direttamente sul ventricolo destro, compromettendo direttamente la sua *performance* ed incidendo anche sul suo lavoro. Tale considerazione risulta fondamentale, alla luce del fatto che un animale con insufficienza cardiaca sinistra è a rischio di sviluppare insufficienza più o meno conclamata dell'altro settore, e di conseguenza congestione venosa sistemica, epatomegalia, ascite e congestione intestinale; tutti fattori che comportano una gestione clinica e terapeutica differenziata e che indubbiamente sono in grado di condizionare l'*outcome* del paziente.

Un altro punto di analisi nel nostro lavoro ha previsto un'ulteriore suddivisione della popolazione di studio in base alla presenza o meno di ipertensione polmonare, indipendentemente o meno dalla presenza di malattia mitralica. Degli 86 cani affetti dalla malattia inclusi nelle classi B1, B2 e S, il 56% è risultato essere affetto anche da una concomitante situazione di ipertensione polmonare, attestata con il ritrovamento di un rigurgito tricuspidalico con velocità maggiore di 2,8 m/s. Questa

prevalenza è relativamente alta rispetto agli altri studi presenti in letteratura (Borgarelli et al, 2004; Serres et al, 2006; Guglielmini et al, 2010), anche se potrebbe essere legata al numero relativamente alto di pazienti in stadio avanzato della malattia inclusi nella nostra popolazione (in molti cani nello stadio asintomatico non viene diagnosticata la patologia fino al momento dello scompenso, in cui si rende clinicamente manifesta) oppure alla scelta di differenti valori di *cut-off* tra i vari studi.

L'ipertensione polmonare nel cane come conseguenza della malattia mitralica cronica è già stata studiata in maniera approfondita mediante l'utilizzo di metodiche ecocardiografiche standard. In particolare, in due lavori la stima della pressione in arteria polmonare era risultata essere correlata al rapporto atrio sinistro/aorta ed al valore del volume telediastolico e telesistolico indicizzato del ventricolo sinistro (Serres et al, 2007; Chiavegato et al, 2009). Essendo questi degli indici di progressione della patologia, era stata dimostrata quindi una correlazione diretta tra la malattia valvolare e l'ipertensione polmonare. In questi studi non erano stati valutati però gli altri parametri di disfunzione diastolica, come le onde E ed A del flusso transmitralico oppure le onde delle velocità miocardiche ventricolari dell'anulus mitralico e tricuspidalico. A tal proposito, nel nostro studio i cani con ipertensione polmonare hanno mostrato un aumento significativo della velocità media dell'onda E transmitralica e del rapporto E/e', con e' misurata sia a livello di anulus mitralico settale che laterale. L'onda E del flusso transmitralico è influenzata dalla pressione atriale sinistra, dalla pressione di riempimento ventricolare sinistra e dal volume del flusso diastolico transmitralico. Tutti questi fattori risultano aumentati in corso di malattia mitralica cronica (Borgarelli et al, 2008). Le velocità e' dell'anulus mitralico settale e laterale, considerate relativamente indipendenti dal precarico, possono essere utilizzate per rimuovere l'influenza del sovraccarico volumetrico sull'onda E del flusso transmitralico, ed ottenere un indice fortemente correlato con la pressione atriale sinistra media (Oyama et al, 2004). L'importante differenza dei valori pMV E/e' e sMV E/e' tra i 2 gruppi di cani con e senza ipertensione

polmonare e la stretta correlazione di questi indici con la stima della pressione in arteria polmonare, evidenziata dai grafici di regressione lineare, ha dimostrato un aumento significativo delle pressioni di riempimento del ventricolo sinistro nei cani con ipertensione polmonare. Questo attesta il fatto che per valori elevati di pressioni di riempimento del ventricolo sinistro in cani con malattia mitralica cronica, vi è un aumento diretto delle pressioni in arteria polmonare, a causa probabilmente di un meccanismo riflesso legato all'ipertensione venosa polmonare ed alla pressione capillare media polmonare che si ripercuotono infine sul comparto arterioso.

Sulla base dei risultati ottenuti, si può ipotizzare con buona accuratezza la presenza di ipertensione polmonare anche in assenza di insufficienza della valvola polmonare o tricuspidalica. In particolare per il parametro sMV E/e' un valore di cut-off di 10, e per il parametro di pMV E/e' un valore di 9,3 hanno mostrato percentuali simili di specificità e sensibilità nella diagnosi di tale condizione. Queste percentuali tuttavia, non superano l'80% e pertanto questi valori da soli non possono considerarsi del tutto predittivi della presenza di ipertensione polmonare e devono perciò essere impiegati solamente come parametro suggestivo di malattia cardiaca più avanzata.

Anche per la valutazione della presenza e del grado di ipertensione polmonare, tuttavia, lo studio delle velocità dell'anulus tricuspidalico mediante metodica TDI si è rivelato poco utile, data la mancanza di differenze significative di tali parametri tra i gruppi 1, 2 e 3. In un lavoro sull'utilizzo del TDI dell'anulus tricuspidalico nella differenziazione tra cani con e senza ipertensione polmonare è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa tra i gruppi relativamente alla velocità dell'onda Sa e del rapporto e'/a' (Serres et al, 2007). Questo rilievo non è stato possibile nel nostro studio. La causa di questa discrepanza può essere ricondotta alla diversa tecnica di analisi impiegata, poiché nel nostro studio abbiamo utilizzato la metodica TDI a Doppler pulsato, mentre nel citato lavoro è stata condotta un'analisi *off-line* sul TDI a codice di colore; al

fatto che nel nostro studio abbiamo impiegato un valore di *cut-off* diagnostico di ipertensione polmonare lievemente differente (2,8 m/sec anziché 2,5 e 3 m/sec come riportato dai colleghi); ed infine alla possibilità che nel nostro lavoro ci sia stata una diversa omogeneità delle misure, in quanto i dati sono stati raccolti da due operatori differenti afferenti a centri diversi, mentre nel lavoro di confronto un unico operatore ha condotto tutte le misure.

Conclusioni

In conclusione, nel presente lavoro di tesi abbiamo dimostrato che la metodica ecocardiografica TDI rappresenta una tecnica utile nell'analizzare il fenomeno dell'interdipendenza ventricolare sisto-diastolica in cani sani ed affetti da malattia valvolare cronica a vario stadio. Inoltre, abbiamo osservato che il grado di ipertensione polmonare si correla con la gravità di disfunzione diastolica del ventricolo sinistro e con le pressioni stimate di riempimento ventricolare, chiarendo il fatto che l'ipertensione polmonare in cani affetti da malattia mitralica è direttamente condizionata dalla gravità di insufficienza cardiaca sinistra.

CAPITOLO 4

PROGETTO 2: UTILIZZO DELL'ECOCARDIOGRAFIA A DOPPLER TISSUTALE (TDI) NELLO STUDIO DELLA DEFORMAZIONE DELL'ATRIO SINISTRO IN UNA POPOLAZIONE DI CANI SANI ED AFFETTI DA MALATTIA MITRALICA CRONICA

INTRODUZIONE

L'atrio sinistro (Asx) svolge funzione di camera contrattile, di serbatoio e di conduzione nelle diverse fasi del ciclo cardiaco. Lo studio delle dimensioni della cavità atriale di sinistra tramite metodica ecocardiografica convenzionale, e del flusso sanguigno attraverso la valvola mitralica e le vene polmonari, mediante valutazioni Doppler, hanno portato ad una migliore comprensione della funzione dell'atrio sinistro. Negli ultimi anni si è sviluppato un forte interesse verso le nuove tecniche ecocardiografiche in grado di fornire una valutazione non invasiva ed obbiettiva della funzione miocardica atriale, rendendo necessaria la validazione del metodo e la creazione di valori di normalità per queste metodiche.

Il *Tissue Doppler Imaging* (TDI) può essere usato per quantificare il movimento miocardico regionale del ventricolo tramite le misurazioni della velocità, della direzione e della deformazione del miocardio. La successiva elaborazione di questi dati permette di quantificare lo Strain Rate (SR), che corrisponde alla velocità con cui il miocardio si deforma, e lo Strain (ϵ) regionale, che rappresenta la quantità di deformazione miocardica (*Sirbu C. et al., 2005*). Sia nell'uomo che nel cane è stato ampiamente dimostrato come ϵ e SR longitudinali possano essere misurati in tutti i segmenti del ventricolo sinistro e destro. Ad oggi però solo nell'uomo esistono dati riguardanti l'utilizzo di questa tecnica per l'analisi della deformazione delle pareti dell'Asx, mentre in medicina veterinaria tale applicazione è limitata a due studi eseguiti nel cavallo (*Schwarzwald C.C., 2006-2007*). Nel cane

invece non è mai stato descritto l'utilizzo del TDI per lo studio della deformazione atriale sinistra.

Quindi, lo scopo di questo studio è principalmente di valutare la possibilità di misurare i profili di velocità, ϵ e SR regionali longitudinali dell'Asx in una popolazione di cani sani, valutandone l'applicabilità e la ripetibilità; definire i valori di normalità per le quattro pareti atriali, e studiarne le eventuali correlazioni con gli indicatori standard della funzionalità atriale sinistra; ed infine eseguire un confronto di questi valori con quelli ottenuti in una popolazione di cani affetti da malattia mitralica cronica con diverso stadio di progressione.

4.1 Anatomia dell'atrio sinistro

Nel cane l'atrio sinistro si trova in posizione caudale rispetto all'atrio destro che invece appare spostato cranialmente e a destra.

La cavità dell'atrio sinistro ha un volume minore della destra; sul suo pavimento si apre l'ostio atrioventricolare sinistro definito da un cercine che dà attacco ai due lembi della valvola mitrale. Le pareti mediale e craniale concorrono alla definizione del setto interatriale che presenta una depressione corrispondente alla fossa ovale, meglio evidente sul versante dell'atrio destro. Sulle pareti dorsale e ventrale, sboccano le vene polmonari in numero di 6 o 7 (4 dal polmone destro e 3 dal sinistro). In avanti e a sinistra la cavità dell'atrio si prolunga in quella della corrispondente auricola. L'atrio destro e l'atrio sinistro svolgono funzione di serbatoio e conduzione del sangue, rispettivamente dalle vene cave all'arteria polmonare e dalle vene polmonari all'aorta, e di camera contrattile che completa il riempimento ventricolare.

Il miocardio è costituito da fasci di fibre muscolari striate organizzati in sistemi indipendenti negli atri e nei ventricoli. Negli atri, lo spessore del miocardio è limitato e consta dei sistemi proprio e comune.

I fasci muscolari del sistema proprio interessano singolarmente ognuno dei due atri, mentre quelli del sistema comune si espandono nella parete di

entrambe le cavità. I fasci partono dai cercini fibrosi degli osti atrioventricolari e si portano dorsalmente con andamento anulare o spirale sino a descrivere delle anse intorno agli sbocchi venosi, formando degli archi sulla volta atriale; quindi scendono lungo la parete opposta per esaurirsi sui cercini fibrosi (*Pelagalli G.V., Botte V., 2003*). Comportamento analogo hanno i fasci comuni che in parte entrano nella costituzione del setto interatriale, sono fissati agli anelli atrioventricolari e vanno da un atrio all'altro e sono perciò detti "unitivi". Costituiscono due gruppi: uno segue la faccia concava e la volta della massa atriale l'altro la faccia convessa (*Bortolami R., et al., 2000*).

Studi anatomici condotti nell'uomo hanno stabilito che in base alla relazione fra l'orientamento delle fibre muscolari e la contrazione atriale è stato sviluppato il concetto di fibre muscolari "longitudinali" e "circonferenziali" della parete atriale. L'orientamento delle fibre circonferenziali è parallelo all'ostio atrioventricolare, mentre le fibre longitudinali decorrono parallele al solco interatriale e a destra dell'angolo della giunzione atrioventricolare (*Wang K., et al., 1995*).

Tutti i principali fasci muscolari dell'atrio s'irradiano da una zona centrale che circonda l'orifizio della vena cava craniale. Quest'area è per la maggior parte nascosta nella parte anteriore del setto atriale, ma davanti all'orifizio della vena cava questa diventa evidente sulla superficie esterna. Tutte le pareti atriali vengono poi formate da una serie complessa di fasci, molti dei quali trovano punto di ancoraggio nel setto interatriale, e che si ramificano avvolgendo la cavità atriale. Inoltre alcuni fasci, detti setto-polmonari, si incrociano sul tetto dell'atrio sinistro ed avvolgono a manicotto le vene polmonari svolgendo quasi un'azione di sfintere (*Papez J.W., 1920*).

4.2 Anatomia del sistema di conduzione ed attivazione elettrica atriale

Il sistema di conduzione cardiaco è costituito da due tipi di tessuto con caratteristiche anatomiche ed elettrofisiologiche differenti: il tessuto nodale ed il tessuto di conduzione. Il primo è formato da cellule dotate di

automatismo spontaneo con funzione di segnapassi. Il tessuto di conduzione è costituito, invece, da cellule che si organizzano in fasci e consentono la propagazione d'impulsi elettrici, che nascono ritmicamente dal tessuto nodale, al tessuto contrattile atriale e ventricolare. Il miocardio di lavoro o tessuto di conduzione risponde con effetti meccanici agli ordini provenienti dal tessuto nodale.

L'impulso elettrico cardiaco origina dal nodo del seno, struttura situata a livello della giunzione tra la vena cava craniale e l'atrio destro. La conduzione si propaga successivamente attraverso il miocardio atriale, le vie preferenziali internodali (fascio anteriore, medio e posteriore) e interatriali (fascicolo inferiore e fascio di Bachmann) fino a raggiungere dapprima i fasci atrionodali (superiore, mediale e laterale), il fascio atrio-ventricolare prossimale e successivamente la porzione compatta del nodo atrio-ventricolare. Quest'ultimo si colloca nella parte inferiore dell'atrio destro a livello dello scheletro fibroso atrio-ventricolare. A questo punto viene attivato il fascio atrio-ventricolare distale, che rappresenta l'unica connessione tra i sistemi di conduzione atriale e ventricolare, e che risulta suddiviso in tre diverse porzioni. La prima riceve lo stimolo elettrico, porzione non penetrante, costituisce la parte più prossimale del fascio. La seconda è porzione penetrante, denominata fascio di His, perfora il trigono fibroso destro e connette il sistema di conduzione specializzato dell'area giunzionale con il sistema di conduzione specializzato ventricolare. Raggiunto il distretto ventricolare il fascio atrio-ventricolare distale nella sua porzione ramificata si dirama nelle due branche destra e sinistra, quest'ultima suddivisa a sua volta in un fascicolo antero-superiore e un fascicolo postero-inferiore che conducono l'impulso elettrico dal setto interventricolare all'apice cardiaco. La rete del Purkinje, infine, collega le branche al miocardio comune consentendo una rapida e coordinata attivazione dell'intera massa ventricolare (fig. 4.1) (*Santilli R.A., Perego M., 2009*).

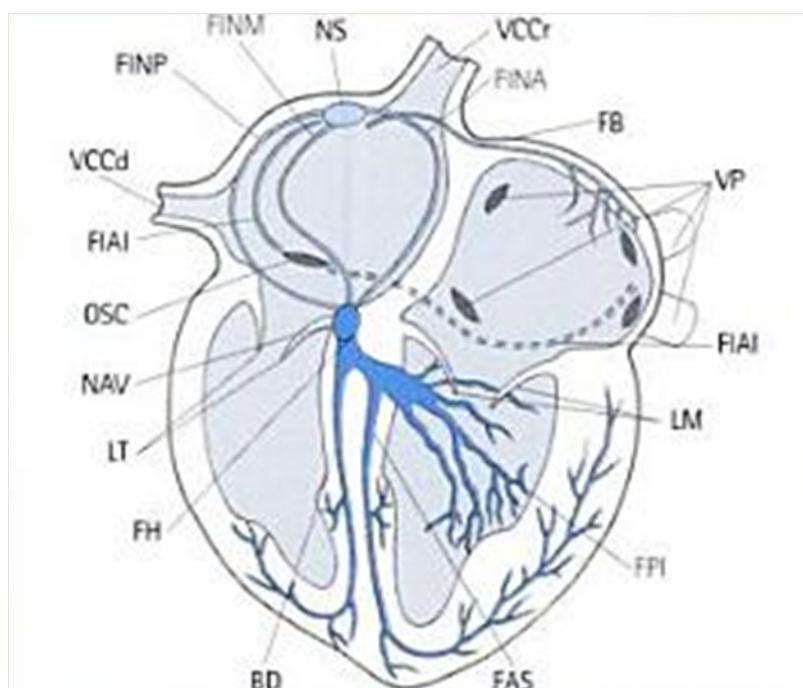


Fig. 4.1: Sistema di conduzione cardiaco specializzato nel cane. VCCr, v. cava craniale; VCCD, vena cava caudale; VP, vene polmonari; OSC, ostio seno coronarico; NS, nodo del seno; FINP, fascio internodale posteriore; FINM, fascio internodale medio; FINA, fascio internodale anteriore; FIAI, fascio interatriale inferiore; FB, fascicolo di Bachmann; NAV, nodo atrio-ventricolare compatto; FH, fascio di His; BD, branca destra; FPI, fascicolo posteriore-inferiore; FAS, fascicolo antero-superiore; LT, lembi tricuspidalici; LM, lembi mitralici. Da Santilli R. e Perego M. modificato.

Sulla base delle strutture anatomiche descritte ed in relazione alla posizione del cuore nel torace, la sede del nodo del seno, e le modalità di propagazione dello stimolo elettrico, è possibile descrivere la depolarizzazione atriale attraverso 2 vettori: il vettore I, che rappresenta la depolarizzazione dell'atrio destro con direzione supero-inferiore, postero-anteriore, e leggermente a sinistra; e il vettore II, che rappresenta invece l'attivazione atriale sinistra assumendo direzione antero-posteriore, destra-sinistra, e leggermente supero-inferiore (Santilli R.A., Perego M., 2009). L'attivazione sequenziale degli atri, a partire dal nodo del seno, dà origine alla deflessione elettrocardiografica denominata onda P. Alla depolarizzazione atriale segue una fase di ripolarizzazione atriale che

presenta le stesse direzioni e grandezza. Ciò è dovuto al sottile spessore delle pareti atriali che comporta uno stato di equilibrio pressorio e termico tra endocardio ed epicardio, per cui le prime regioni che si attivano sono anche le prime a ripolarizzarsi. Pertanto il vettore di ripolarizzazione atriale mostra un orientamento supero-inferiore, antero-posteriore e da destra a sinistra con direzione parallela alle pareti muscolari atriali (*Santilli R.A., Perego M., 2009*).

4.3 Fisiologia cardiaca

In risposta alla depolarizzazione elettrica e al movimento del Calcio nelle cellule, si instaurano una serie di eventi meccanici che si verificano tra un battito e l'altro, e comprendono un periodo di contrazione, denominato *sistole*, e un periodo di rilasciamento, denominato *diastole*, che vanno a determinare il ciclo cardiaco. Durante la fase diastolica le pareti degli atri e dei ventricoli sono completamente rilasciate quindi il sangue può passare dalle vene cave e dalle vene polmonari all'interno degli atri, e quindi circa il 75% del sangue passa poi nei ventricoli. In questa fase le valvole semilunari aortica e polmonare sono chiuse, poiché la pressione dei ventricoli è inferiore a quella delle arterie (*Albertini M, 2010*).

Il restante 25% di sangue passa ai ventricoli in seguito alla contrazione atriale, che corrisponde ad un aumento della pressione atriale, che raggiunge circa 8 mmHg nell'atrio sinistro, e 6 mmHg a destra e l'inizio della chiusura delle valvole atrio-ventricolari. La contrazione atriale provoca inoltre un piccolo reflusso di sangue verso le vene, dal momento che queste non presentano valvole unidirezionali. Termina così la fase di riempimento ventricolare.

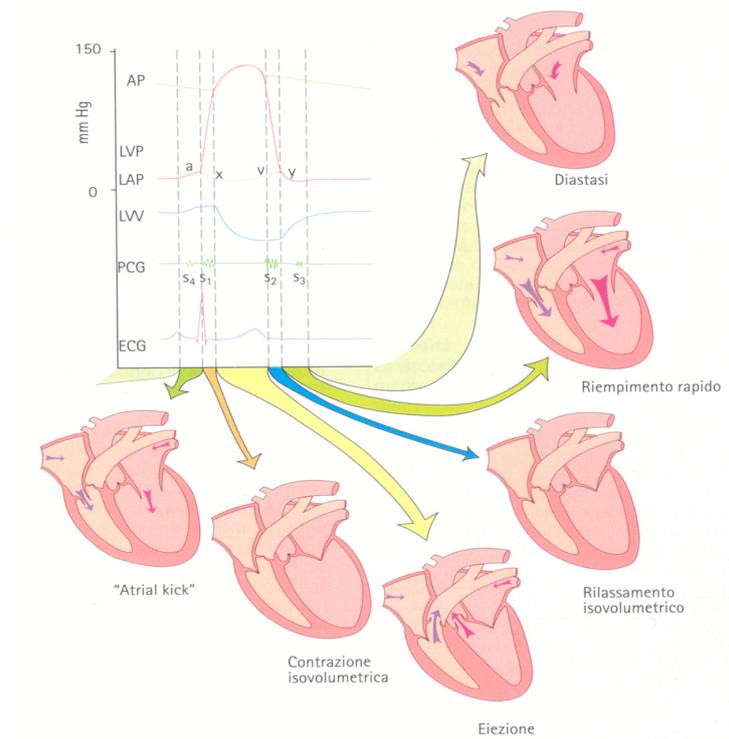


Fig. 4.2 Diagramma del ciclo cardiaco. Mostra la relazione fra l'attività elettrica; la pressione all'interno dell'atrio, del ventricolo, e dei grossi vasi; la variazione del volume in ventricolo; ed i rumori cardiaci. AP, pressione aortica; LVP, pressione del ventricolo sinistro; LAP, pressione atrio sinistro; LVV, volume del ventricolo sinistro; PCG, fonocardiogramma; ECG, elettrocardiogramma.

La contrazione del ventricolo prende origine dall'apice dello stesso, che contraendosi spinge il sangue verso la base e quindi verso la faccia inferiore dei lembi valvolari, che si chiudono completamente. La contrazione provoca inoltre un aumento di pressione all'interno dei ventricoli, ma anche se il volume dei ventricoli non cambia, si assiste ad una variazione delle lunghezze delle fibrocellule muscolari cardiache, poiché alcune si accorciano mentre altre si allungano, facendo sì che il ventricolo diventi più sferico e la distanza tra base e apice si accorci. Questa viene definita contrazione ventricolare isovolumetrica (Albertini M, 2010).

Durante questa fase, la muscolatura atriale inizia a ripolarizzarsi, di conseguenza le pareti atriali si rilasciano e il sangue può riprendere a fluire dalle vene agli atri.

L'eiezione ventricolare è divisa in due fasi: *eiezione rapida*, che si verifica nel momento in cui la pressione del ventricolo sinistro raggiunge quella dell'aorta (80 mmHg), e quella del ventricolo destro raggiunge la pressione dell'arteria polmonare (8 mmHg), e quindi avremo l'apertura delle valvole semilunari. Ciò corrisponde ad un accorciamento (contrazione) del ventricolo e ad un ulteriore aumento della pressione (circa 120 mmHg nel ventricolo sinistro e 25 mmHg nel ventricolo destro). Durante questa fase, circa tre quarti del volume di eiezione passa alle arterie mentre le valvole atrio ventricolari restano chiuse. Alla fine di questa fase si ha una riduzione della pressione all'interno degli atri, dovuta ad una discesa della base cardiaca con conseguente distensione atriale. Mentre durante la fase di *eiezione lenta*, si ha una progressiva diminuzione della pressione all'interno del ventricolo che riduce l'efflusso di sangue fino al suo cessare. Questo è dovuto al fatto che le fibrocellule muscolari del ventricolo sviluppano una forza minore e le prime entrate in contrazione cominciano a rilasciarsi. Al termine della fase di eiezione, nei ventricoli rimane sempre una quantità di sangue denominata *volume telesistolico*.

Con l'inizio del rilasciamento della muscolatura dei ventricoli si verifica la caduta di pressione all'interno degli stessi, che diventa inferiore a quella di aorta e arteria polmonare, e nel contempo si chiudono le valvole semilunare. Poiché le valvole atrio ventricolari non si sono ancora aperte, in quanto la pressione all'interno degli atri è ancora minore rispetto a quelle dei ventricoli, ma il volume ventricolare non cambia e il miocardio si rilascia, si parla quindi di rilasciamento isovolumetrico (fig. 4.2).

Quando la pressione nei ventricoli scende al di sotto di quella atriale, determinando l'apertura delle valvole atrioventricolari, inizierà un nuovo ciclo cardiaco (*Albertini M, 2010*).

4.4 Fisiologia dell'atrio sinistro

La funzione atriale è fondamentale per una corretta *performance* del sistema cardiocircolatorio.

Da un punto di vista emodinamico questa camera cardiaca agisce da facilitatore e distributore per ottimizzare il riempimento ventricolare attraverso tre componenti.

Nella fase di diastole ventricolare precoce con le valvole semilunari chiuse e le valvole atrioventricolari aperte, l'atrio agisce da "condotto", favorendo il passaggio di sangue dalle vene polmonari al ventricolo sinistro, con un meccanismo di riempimento passivo. Ciò avviene grazie al gradiente pressorio che si viene a creare tra atrio e ventricolo a seguito della sistole ventricolare (*Zhang Q.,2007*).

Il riempimento ventricolare però, sarà completo solo a seguito di una contrazione atriale attiva, stimolata dall'attivazione delle cellule pacemaker del nodo del seno. Ciò si verifica durante la fase di diastole tardiva, nel corso della quale l'atrio svolge la funzione di "camera contrattile" (pompa). La contrazione è garantita dalla capacità contrattile delle fibre muscolari e dalla pressione intra-atriale presente all'inizio della sistole atriale (carico atriale). Infatti, secondo la legge di Frank-Starling, un aumento della pressione atriale associato ad un aumento dello stiramento delle fibre miocardiche, risulterà in un aumento della contrattilità intrinseca.

Infine, l'atrio agisce da "serbatoio" quando, durante la sistole ventricolare, le valvole atrioventricolari sono chiuse ed il sangue refluo della circolazione polmonare si alloggia nella camera atriale distendibile. Con conseguente aumento della pressione e stiramento delle fibre muscolari (*compliance* atriale).

In soggetti normali, il contributo della funzione di serbatoio, condotto e pompa dell'atrio nel riempimento ventricolare è approssimativamente del 40%, 35%, 25% rispettivamente. Inoltre in corso di alterazioni nel riempimento ventricolare l'atrio è capace di correggere la proporzione

relativa a queste componenti al fine di mantenere una normale gittata sistolica. (Zhang Q.,2007)

4.5 Valutazione ecocardiografica dell'atrio sinistro

Gli atri sono valutati ecograficamente per osservare eventuali dilatazioni, masse intracavitarie o difetti del setto interatriale. Nella scansione parasternale sinistra quattro-camere vengono visualizzati l'atrio sinistro e l'atrio destro, che in condizioni normali mostrano dimensioni all'incirca simili (Fox P., 1999). La quantificazione delle dimensioni delle camere cardiache, si colloca fra i più importanti e frequenti compiti clinici richiesti all'ecocardiografia. Il tentativo fatto in passato di dare dei range di riferimento per le misurazioni fatte con l'ausilio dell'ultrasonologia in cardiologia è stato inconsistente e di scarso successo, se comparato con le altre metodiche di *imaging* e conseguentemente, le misure ecocardiografiche erano spesso percepite come poco affidabili. Per questo motivo l'“American Society of Echocardiography”, insieme alla “European Association of Echocardiography”, hanno lavorato ad una revisione critica della letteratura ed all'aggiornamento delle raccomandazioni per la quantificazione delle camere cardiache con la tecnica ecocardiografica. (Lang R.M., 2006)

4.6 Determinazione delle dimensioni dell'atrio sinistro

La valutazione delle malattie del cuore di sinistra, include l'esame della dimensione dell'atrio sinistro (Asx), che permette di investigare il grado di gravità della malattia ed il rischio di sviluppare insufficienza cardiaca congestizia sinistra (ICCs). Nel cane come nell'uomo infatti, l'incremento del volume atriale aumenta il rischio di sviluppare ICCs, in quanto l'ipertrofia ed il sovraccarico volumetrico dell'atrio di sinistra portano ad un aumento della pressione nella camera atriale, con ristagno di sangue a monte.

Fra i primi metodi utilizzati per la stima della dimensione dell'atrio sinistro, vi è quello che si avvale della tecnica M-mode e che è stato riportato dalla medicina umana. Questo metodo prevede di correlare il diametro in asse-corto dell'Asx con il peso corporeo o con la superficie corporea del soggetto. Diverse sono però le ragioni plausibili per l'esistenza di una correlazione imperfetta fra alcune variabili cardiache ed il peso corporeo dell'animale. La prima è sicuramente data dal fatto che il peso corporeo può cambiare nel tempo in base alla condizione nutrizionale, così come la superficie corporea. Inoltre due animali con lo stesso peso possono avere sostanziali differenze di taglia (per es. un Cocker Spaniel obeso e un Border Colli atletico, entrambi di 20 Kg di peso) (*Rishniw M., 2000.*) La seconda ragione è descritta in alcuni lavori che hanno messo in evidenza come il somatotipo influisca sulle variabili ecocardiografiche indipendentemente dal peso corporeo (*Morrison s.a., 1992*). Inoltre una variazione transitoria del volume di sangue causata da una lieve disidratazione o da un lieve sovraccarico volumetrico, potrebbe causare un'alterazione della geometria dall'Asx (*Hansson K., et al., 2002*).

Per superare queste problematiche sono stati presi in considerazione delle metodiche di misurazione indipendenti dal peso corporeo, avvalendosi della comparazione della dimensione atriale con quella dell'aorta (Ao). Questo è importante soprattutto alla luce del fatto che il diametro aortico in un cane adulto subisce delle variazioni sicuramente minori, nel corso del tempo, rispetto al peso corporeo, consentendo così l'acquisizione di misure più accurate (*Lombard C.W., 1984*).

Esistono quindi diversi metodi per la valutazione delle dimensioni dall'Asx:

- diametro in asse-corto, si misura il diametro interno in asse-corto dell'aorta lungo la commessura fra la cuspidi non coronarica e la cuspidi coronarica destra, nel primo fotogramma dopo la chiusura della valvola aortica. Si valuta anche il diametro interno in asse-corto dell'Asx, tramite una linea che si estende dalla commessura fra le cuspidi aortica non coronarica e coronarica di sinistra, fino al margine distale dell'atrio

sinistro. Le due misure sono usate per calcolare il rapporto Atrio sinistro/Aorta (LA/Ao), per ottenere una stima del grado di dilatazione atriale (fig.4.3A).

- diametro in asse lungo, la prima linea utile per questa misurazione attraversa l'anulus mitralico quando questo è visualizzato nel frame appena precedente all'apertura della valvola mitrale (poco prima del riempimento diastolico precoce). La seconda linea divide in due la precedente e arriva fino al tetto dell' Asx con orientamento "apice-base", mentre una terza linea parte dal setto interatriale e arriva alla parete dell'atrio con orientamento "medio-laterale", dividendo in due l'atrio sinistro. Da quest'ultima si ricavano le misure delle dimensioni dell'atrio (fig. 4.3 B).

- circonferenza aortica e dell'atrio sinistro, In questo caso si misura la circonferenza interna in asse corto dell'atrio sinistro e dall'Ao nello stesso frame usando un software di calcolo automatico in dotazione nella macchina ecografica (fig. 4.3C). (*Rishniw M., Erb H.N., 2000*)

In uno studio condotto su 36 cani sani, di diversa età e peso, il 100% dei soggetti presentava un indice LA/Ao inferiore a 1.6, con una mediana di 1.3. Negli studi precedenti però i ricercatori avevano accettato valori di normalità dell'indice LA/Ao inferiori ad 1.3, con una media di 1.0. Questi diversi valori possono essere spiegati con il fatto che gli studi precedenti avevano utilizzato la tecnica M-mode adottata in medicina umana, e non la 2DE (*Rishniw M., Erb H.N., 2000*). Infatti comparando le misurazioni dell'indice LA/Ao in M-mode, con quelle in 2DE, in cani sani e affetti da rigurgito mitralico, si è messo in evidenza che in generale i valori 2DE sono per l'11% più alti rispetto ai valori M-mode corrispondenti (*Hansson K.et al., 2002*).

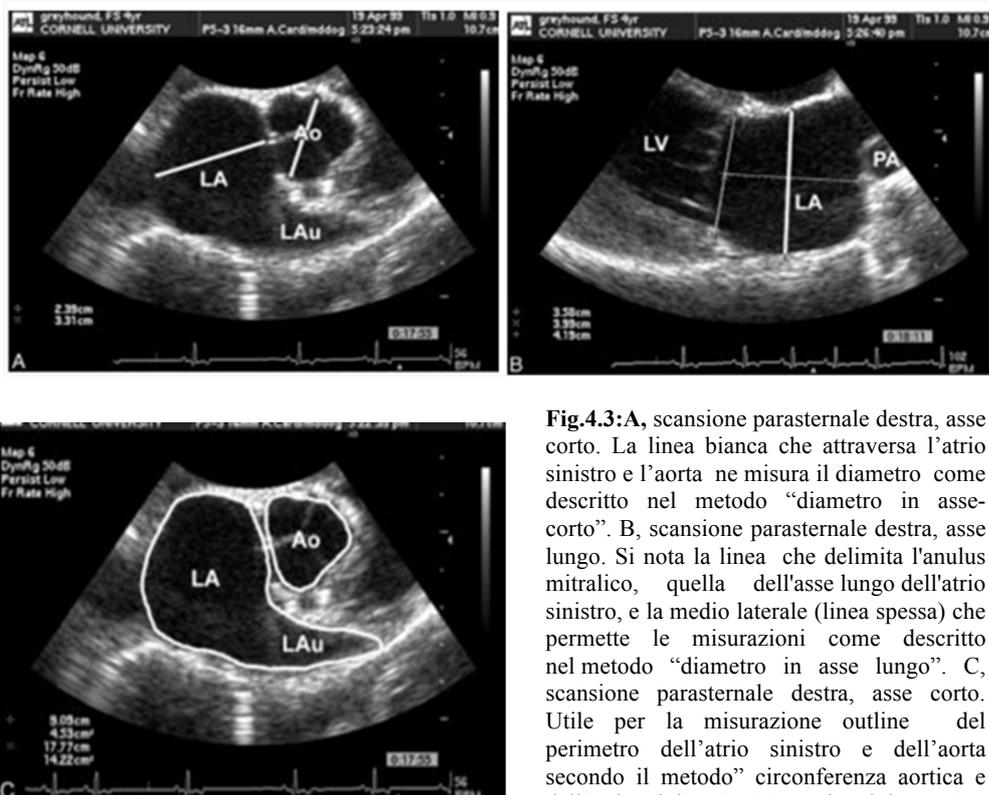


Fig.4.3:A, scansione parasternale destra, asse corto. La linea bianca che attraversa l'atrio sinistro e l'aorta ne misura il diametro come descritto nel metodo "diametro in asse corto". B, scansione parasternale destra, asse lungo. Si nota la linea che delimita l'anulus mitralico, quella dell'asse lungo dell'atrio sinistro, e la medio laterale (linea spessa) che permette le misurazioni come descritto nel metodo "diametro in asse lungo". C, scansione parasternale destra, asse corto. Utile per la misurazione outline del perimetro dell'atrio sinistro e dell'aorta secondo il metodo "circonferenza aortica e dell'atrio sinistro". LA, atrio sinistro; Ao,

4.7 Nuove tecniche ecocardiografiche

Negli ultimi 30 anni l'ecocardiografia è diventata la tecnica d'elezione nella diagnosi e gestione delle malattie cardiovascolari nel cane e nel gatto. Alla fine degli anni ottanta la miniaturizzazione delle componenti dei trasduttori ha permesso lo sviluppo dell'ecocardiografia transesofagea, che viene usata per esaminare anomalie specifiche (malattie cardiache congenite, trombosi, tumori cardiaci) e per monitorare le procedure chirurgiche ed interventistiche. Durante l'ultima decade, le più recenti innovazioni nella tecnica ultrasonografica, che hanno introdotto nuove modalità di *imaging*, per esempio il Tissue doppler Imaging (TDI), lo Strain (St), lo Strain Rate (SR) e lo Speckle Tracking 2DE (STE), hanno permesso la valutazione di nuovi parametri per la valutazione della performance miocardica, includendo le velocità e la deformazione

miocardica, la torsione ventricolare e la sincronia meccanica (*Chetboul V., 2010*).

4.8 Applicazioni cliniche degli indici TDI derivati atriali

Gli indici di funzionalità atriale ottenuti mediante Doppler convenzionale del flusso transmitralico sono risultati poco sensibili nello stabilire condizioni di disfunzione contrattile dell'atrio sinistro, e quindi nel corso degli anni nuovi indici di valutazione della funzione atriale sono stati introdotti (*Appleton C.P., 1993 - Stefanidis C., 1998*). Negli ultimi anni è stato suggerito l'utilizzo dei valori delle velocità miocardiche atriali, mediante la tecnica TDI PW.

È stato eseguito, per esempio, uno studio che prendeva in considerazione il picco della velocità atriale nel tratto dell'anulus mitralico, selezionato in un volume campione. Questo lavoro ha messo in evidenza come le misurazioni delle velocità dell'anulus mitralico (A') abbiano il potenziale di quantificare il contributo atriale alla diastole. Infatti la velocità A' è risultata essere marcatamente ridotta, rispetto ai range di normalità, in pazienti con grave disfunzione diastolica del ventricolo sinistro, inoltre in questi soggetti la velocità A' rimaneva fortemente correlata ai parametri quantitativi convenzionali di funzionalità atriale nonostante la ridotta funzione atriale (*Khankirawatana B. et al., 2004*).

Gurlertop et al., hanno invece utilizzato la tecnica del TDI PW per lo studio della funzionalità miocardica atriale nell'uomo in corso di rigurgito mitralico, una condizione in grado di produrre un sovraccarico volumetrico concomitante in atrio ed in ventricolo, con conseguente riduzione della frazione di svuotamento atriale. In questo lavoro è stato messo a confronto un gruppo di persone con rigurgito mitralico ad altri due gruppi, uno di pazienti sani e un altro di pazienti con stenosi mitralica. I risultati hanno mostrato un deterioramento della funzione globale dell'auricola sinistra, con la mancata visualizzazione della velocità sistolica tardiva in pazienti con malattia mitralica, normalmente osservata in individui con una normale

pressione atriale, suggerendo quindi che questa velocità è influenzata dalla pressione atriale e dal movimento di schiacciamento ventricolare (Gurlertop Y. et al., 2004).

Il TDI PW risulta quindi una tecnica ideale per la pratica clinica in quanto è ampiamente disponibile e di facile acquisizione, rendendola adatta per le misurazioni di routine della funzionalità atriale. Comunque, essendo il movimento miocardico influenzato dall'effetto *tethering*, il metodo di valutazione delle velocità da solo non risulta essere ottimale per la misurazione della funzione miocardica, ed al fine di superare questi limiti, come per il ventricolo, anche per la camera atriale è stato introdotto l'utilizzo degli indici di deformazione ϵ e SR.

Fino ad oggi, lo studio della funzione meccanica atriale in medicina veterinaria è limitato alla specie equina, mentre nel cane la valutazione della funzione meccanica dell'atrio sinistro mediante l'uso della modalità ecocardiografica degli indici di velocità, dello ϵ e dello SR derivati dal *Tissue Doppler Imaging* non è stata descritta in nessuno studio precedente.

A differenza che nelle persone però, dove per questo tipo di valutazioni viene utilizzata una scansione apicale sinistra quattro e due camere, nel cavallo la scansione apicale non è accessibile, e quindi in questa specie viene eseguita una valutazione del movimento radiale della parete libera dell'atrio di sinistra, tramite una scansione parasternale destra in asse lungo ed in asse corto.

Come in tutte le tecniche diagnostiche, anche le misurazioni ecocardiografiche, sono soggette a diverse fonti di variabilità. Queste risultano infatti influenzate, oltre che da una variabilità biologica normale, anche da effetti fisiologici, fattori ambientali, e reazioni comportamentali, e per questo motivo risulta importante la valutazione dei coefficienti di variabilità di queste misure. In particolare un lavoro eseguito su 5 cavalli ha messo in evidenza una variabilità delle misure delle velocità miocardiche atriali, intra ed inter osservatore, basse o molto basse, dimostrando che l'ecocardiografia trans toracica può essere utilizzata in

cavalli non sedati per la valutazione della attività meccanica atriale (*Schwarzwald C.C. et al., 2006*).

Questa funzione meccanica può risultare alterata per esempio in corso di fibrillazione atriale (FA) e si accompagna a cambiamenti elettrici e strutturali che generalmente sono reversibili e che migliorano progressivamente nel tempo se viene ripristinato un ritmo sinusale. Non sono ancora del tutto conosciuti i fattori che influenzano la gravità della disfunzione meccanica dell'atrio indotta dalla FA e la velocità di recupero in seguito ad un ripristino del ritmo sinusale, ma questi sono certamente influenzati dalla durata della FA, dalle dimensioni dell'atrio e dalla sottostante malattia cardiaca strutturale. A questi fattori è quindi legato anche il successo del trattamento di riconversione del ritmo. La buona riuscita dell'intervento si può verificare anche grazie alla valutazione degli indici di deformazione miocardica atriale ed in particolare variano i valori del TTP-Aa, che risulta prolungato in maniera poco rilevante, e del rapporto TTP-Aa/D-Aa che aumenta invece significativamente (*Schwarzwald C.C. et al., 2007*).

Recentemente le misurazioni di ϵ e SR Doppler-derivati sono state usate nelle persone per la valutazione, in modo riproducibile e non invasivo, della funzionalità atriale. Lo ϵ e SR dell'atrio sinistro vengono misurati *offline* partendo da un'immagine TDI dell'atrio ottenuta mediante la scansione parasternale sinistra apicale, asse lungo, la quale permette di dividere la camera atriale nelle pareti anteriore ed inferiore, con la scansione due camere e nella parete laterale e settale, con la scansione quattro camere (fig. 4.4). Diversi studi eseguiti su un numero sempre maggiore di persone hanno permesso di stabilire i parametri di normalità di ϵ e SR atriale in individui sani, dimostrando anche la praticità dell'uso di questi indici per le misurazioni della funzione meccanica dell'Asx, permettendo di comprendere il suo complesso ruolo nelle varie fasi funzionali (riserva, condotto, pompa) (*Boyd A. et al., 2011*).

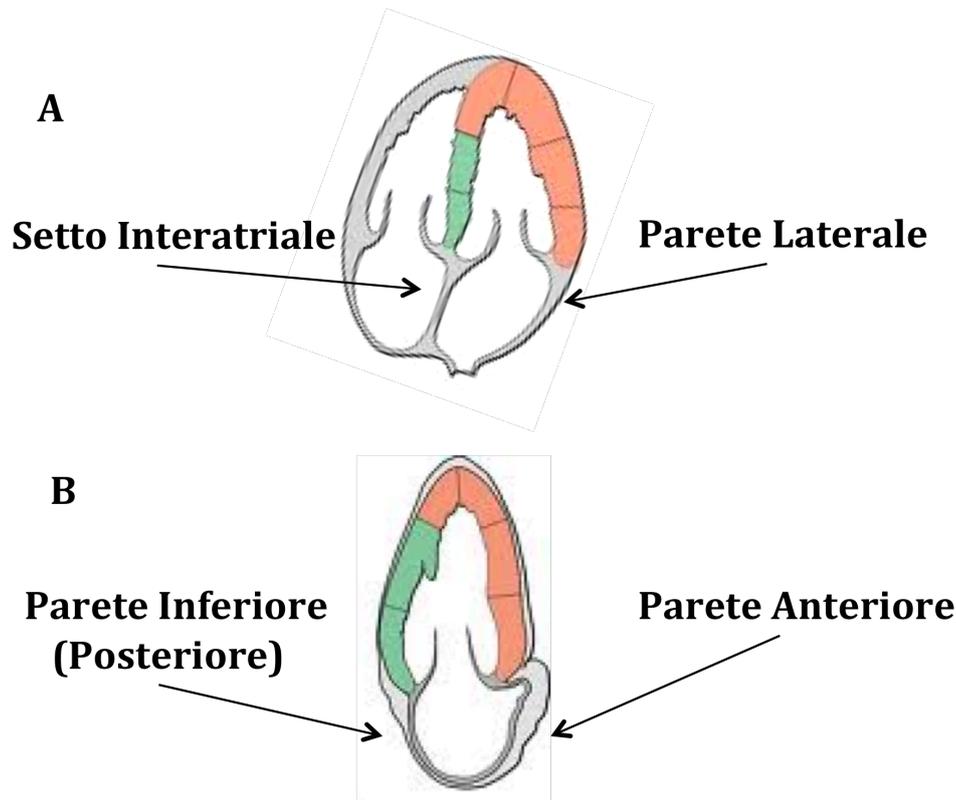


Fig. 4.4: A, scansione apicale sinistra, asse lungo, 4 camere. B, scansione apicale sinistra, asse lungo, 2 camere. Da Lang et al 2006 modificato.

Questo tipo di analisi permette di ottenere uno schema della funzionalità atriale, nelle diverse fasi del ciclo cardiaco, visualizzando un tracciato costituito da un'onda sistolica (S), una diastolica precoce (E), ed una diastolica tardiva (A, della contrazione atriale), con indici di funzionalità meccanica più alti nell'atrio destro rispetto all'atrio sinistro. Il periodo di funzione di riserva dell'atrio viene identificato nell'intervallo fra la chiusura (MVC) e l'apertura della valvola mitralica (MVO), durante il quale si verifica la contrazione isovolumetrica, l'eiezione del ventricolo sinistro ed il rilasciamento isovolumetrico; mentre il periodo di conduzione è identificato nell'intervallo fra la MVO e l'inizio dell'onda A, e corrisponde al riempimento precoce del ventricolo (durata dell'onda E) (fig.4.5) (Sirbu C. et al., 2005).

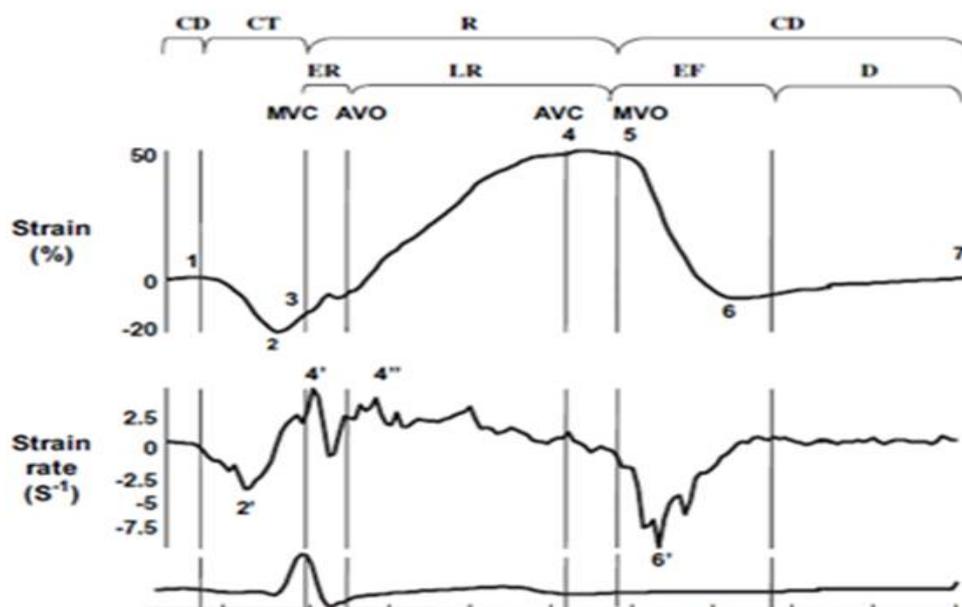


Fig. 4.5: Diagramma del profilo di ϵ e SR longitudinali del miocardio dell'atrio sinistro. MVC, chiusura valvola mitrale; AVO, apertura della valvola aortica; AVC, chiusura della valvola aortica; MVO, apertura valvola mitralica; CT, periodo di contrazione (1, inizio; 2, picco ϵ ; 2' picco SR; 3, fine); R, periodo di riserva; (3, inizio; 4 picco ϵ ; 5 fine); ER, periodo di riserva "precoce" (4', picco SR); LR, periodo di riserva "tardivo" (4'', picco SR); CD, periodo di conduzione (5, inizio; 6, picco ϵ ; 6', picco SR; 7, termine della deformazione parietale durante la diastole; EF, riempimento ventricolare precoce; D, diastole). Da Heimdal A., 2007, modificato.

È stato così suggerito che la contrazione longitudinale dell'atrio può essere direttamente misurata mediante i valori dell'onda A, mentre le onde S ed E rappresentano la funzione passiva dell'atrio. Inoltre le misurazioni TDI-derivate riflettono indirettamente la sequenza di attivazione elettrica atriale, dall'atrio destro (Adx) all'atrio sinistro, come rivelato da studi elettrofisiologici endocavitari.

Studi condotti su soggetti sani hanno dimostrato la praticabilità e la riproducibilità dei parametri TDI, con una variabilità, sia intra-osservatore che inter-osservatore del 10%. Questi hanno mostrato anche come la parete libera dell'atrio destro possieda dei valori di velocità e SR più alti rispetto agli altri siti, ed in generale abbia velocità superiori a quelle del sinistro;

mentre il setto interatriale (IAS) risulta il segmento miocardico atriale più lento. Inoltre è stato osservato come la funzione meccanica dell'Asx sia abbastanza simile in tutta la parete, e come la contrazione atriale longitudinale, sia globale che segmentale, subisca una riduzione dei valori di velocità e SR andando dai segmenti atriali più apicali (anello atrio-ventricolare), a quelli più basali (base atriale) (*Zhang Q e Yu C.M., 2007 - Quintana M. et al., 2005*).

Mentre non sono state evidenziate significative correlazioni degli indici di deformazione di derivazione Doppler con il sesso, esistono vari studi che hanno dimostrato la stretta correlazione fra lo ϵ e lo SR diastolico e sistolico con l'età. All'invecchiamento si associa una ipertrofia miocardica con fibrosi, che induce una riduzione della *compliance* del miocardio stesso. Di conseguenza per mantenere un adeguato riempimento ventricolare la pressione in Asx cresce, come la tensione sulla parete atriale che stimola la dilatazione camerale con stiramento del tessuto miocardico atriale. Il successivo aumento della contrattilità dell'Asx è spiegato dalla legge di Frank-Starling, ed è stato confermato proprio dagli indici TDI. Questa premessa porta ad una facile comprensione dei risultati ottenuti in diverse ricerche che hanno mostrato velocità di deformazione atriale significativamente più elevate nei gruppi di pazienti con un'età maggiore ai 50-60 anni (*Tomas L., 2003 - Zang Q. et al., 2006*).

Lo studio degli indici di deformazione miocardica atriale è risultato utile anche nei soggetti con difetti cardiaci congeniti. Il difetto del setto atriale è una comune malattia cardiaca congenita, che può essere corretta mediante un intervento chirurgico o una chiusura trans catetere. Proprio per una comparazione fra questi due tipi d'interventi è stato utile l'impiego degli indici di deformazione atriale, che hanno dimostrato come l'approccio trans catetere permetta di conservare le proprietà miocardiche regionali di entrambi gli atri, mentre i picchi sistolici di SR atriale risultano significativamente ridotti a seguito dell'approccio chirurgico (*Di Salvo G. et al., 2005*).

Le curve di ϵ e SR TDI-derivate, vengono inoltre usate per la misurazione del ritardo elettromeccanico atriale, valutando l'intervallo che intercorre dall'inizio dell'onda P sul tracciato elettrocardiografico, all'inizio dell'onda A delle curve di deformazione miocardica. La fibrillazione atriale (FA) è l'aritmia più frequente nella pratica clinica. In pazienti con FA gli indici di velocità e SR dell'atrio sinistro sono marcatamente ridotti a livello della base della parete libera, come sono ridotti gli indici di velocità, ϵ e SR per il miocardio nella porzione mediana della stessa parete, sia in diastole che in sistole. Questi valori stanno ad indicare in accordo con diversi studi la riduzione della *compliance* atriale in corso di FA: peggioramento della funzione di riserva, con una distensione atriale gravemente compromessa durante l'eiezione ventricolare, e della funzione di conduzione, con accorciamento miocardico significativamente ridotta in fase diastolica precoce; il tutto associato ad una assenza della funzione contrattile in diastole tardiva.

Inoltre la FA postoperatoria (POAF) può essere una complicazione comune nelle persone sottoposte a chirurgia cardiaca (incidenza del 10-50%). La sua eziologia non è ancora del tutto chiara, ma si suppone che lo stress acuto dell'intervento, associato ad una disfunzione meccanica atriale subclinica, porti allo sviluppo di un declino funzionale acuto e quindi alla manifestazione della POAF. Ne deriva quindi che una disfunzione sistolica atriale di partenza, provocata per esempio dall'età, da un sovraccarico volumetrico, o da uno squilibrio elettrolitico, sia un fattore predittivo di sviluppo di POAF a seguito di un intervento cardiaco, per una maggiore vulnerabilità elettrica dell'atrio. In uno studio condotto da Tayyareci et al. è stata eseguita una valutazione preoperatoria della funzione atriale usando gli indici di deformazione ϵ e SR in pazienti sottoposti all'innesto di *bypass* aorto-coronarico (CAGB). Questo ha messo in evidenza che nei pazienti che hanno sviluppato POAF in seguito all'intervento esisteva una compromissione statisticamente significativa dei valori di ϵ e SR sistolici dell'atrio sinistro, rispetto ai pazienti che hanno mantenuto un ritmo sinusale postoperatorio (Tayyareci Y. et al., 2010).

A supporto di queste indicazioni esistono diversi lavori riguardanti l'uso degli indici di deformazione miocardica in corso di FA, come fattori predittivi di una recidiva della stessa in seguito ad un intervento non farmacologico per il ripristino del ritmo sinusale (cardioversione elettrica e ablazione trans catetere) nel corso di un periodo di circa nove mesi. Negli anni passati si era cercato di utilizzare come fattore predittivo di questa condizione, gli indici di velocità miocardica ottenuti con la tecnica convenzionale Doppler, ma è stato dimostrato che la *compliance* atriale risulta alterata già prima del rimodellamento strutturale, questi sono risultati poco sensibili ad una sua valutazione. Ad oggi i più accurati fattori predittivi di mantenimento del ritmo sinusale in seguito a interventi di ablazione o cardioversione sono il picco di SR sistolico della parete atriale inferiore ed il picco di ϵ sistolico del setto atriale, con una sensibilità del 99% ed una specificità del 78% (*Di Salvo G. et al., 2005*).

In questi soggetti è stato inoltre possibile dimostrare che ϵ e SR riflettono il processo di rimodellamento atriale dipendente dal tipo di FA (persistente o parossistica), e permettono la valutazione dell'inversione dello stesso rimodellamento dopo il mantenimento del ritmo sinusale, evidenziando un recupero della funzione dell'atrio di sinistra a seguito di un intervento riuscito di cardioversione, con riduzione del diametro atriale nel corso dei primi tre mesi di follow up rispetto a pazienti con recidiva di FA post intervento (*Schneider C. et al., 2008*).

4.9 MATERIALI E METODI

Introduzione

Nel presente studio prospettico ci proponiamo di valutare l'applicabilità e la riproducibilità dell'ecocardiografia trans-toracica a Doppler tissutale (TDI) per l'analisi delle proprietà di deformazione dell'atrio sinistro in una popolazione di cani sani, definendo dei parametri di normalità in questa specie. I risultati così ottenuti verranno, inoltre, paragonati con quelli rilevati in un gruppo di cani affetti da malattia mitralica spontanea con diversi gradi di dilatazione atriale sinistra e d'insufficienza cardiaca, per riscontrare la presenza di disfunzione atriale in corso di malattia.

Selezione della popolazione di studio

Sono inseriti nello studio cani sani ed affetti da malattia mitralica cronica riferiti all'Ospedale Didattico Veterinario dell'Università di Bologna nel periodo compreso tra Aprile 2010 e Dicembre 2011. Per tutti i soggetti si è proceduto alla raccolta di dati anamnestici riferiti dai proprietari, alla visita clinica di base e specialistica cardiologica, ed alla valutazione strumentale cardiologica tramite esame ecocardiografico standard, esame elettrocardiografico di superficie e, quando necessario, a radiografia toracica in due proiezioni ortogonali.

Gli animali sono poi stati suddivisi nei seguenti 3 gruppi di studio:

- gruppo 1: cani sani privi di malattia cardiaca rilevabile;
- gruppo 2: cani affetti da malattia mitralica cronica in assenza di dilatazione atriale sinistra;
- gruppo 3: cani affetti da malattia mitralica cronica in presenza di dilatazione atriale sinistra.

I soggetti inseriti nel gruppo 1 dovevano presentare età superiore ai 2 anni, assenza di soffio cardiaco o di altre alterazioni cardiocircolatorie riscontrabili all'esame clinico specialistico, esame elettrocardiografico di

superficie a 12 derivate nei limiti della norma (*Tilley L.P., 1992*) ed esame ecocardiografico trans toracico standard negativo per presenza di malattie cardiostrukturali rilevabili. L'esame ecocardiografico doveva risultare completo di studio bidimensionale, monodimensionale (M-Mode) e Doppler per la valutazione dei flussi trans valvolari. Le misure e gli indici delle pareti cardiache e delle camere atriali e ventricolari sono stati confrontati con i range di normalità presenti in letteratura sulla base di scale allometriche, logaritmiche od esponenziali e, quando presenti, confrontati con i limiti di normalità razza-specifici (*Cornell C.C., 2004 - Goncalves A.C. et al., 2002 - Zoghbi W.A. et al., 2003*).

I soggetti compresi nel gruppo 2 e 3 dovevano presentare segni clinici compatibili con malattia cardiaca (soffio cardiaco sistolico caratteristico) e la presenza di alterazioni ecocardiografiche tipiche di malattia mitralica cronica (ispessimento dei lembi valvolari mitralici, prollasso sistolico degli stessi in atrio sinistro, rigurgito mitralico rilevabile alla metodica Color Doppler). La distinzione dei due gruppi veniva effettuata sulla base del riscontro all'esame ecocardiografico di dilatazione atriale sinistra secondo la metodica descritta di seguito.

Studio ecocardiografico

Le rilevazioni ecografiche di tutti i soggetti di questo studio sono state eseguite sempre dallo stesso operatore con l'impiego di un ecografo Philips© iU22 (*Ultrasound System, Philips Healthcare, Monza, Italy*), equipaggiato con un trasduttore phased-array S5-1 MHz, ed accompagnato da un monitoraggio ECG continuo. Per una migliore ottimizzazione dell'immagine è stata realizzata una lieve tricotomia intorno alla zona di percezione dell'itto cardiaco, e sempre a questo livello la cute è stata pulita con alcool isopropilico al 70%. Infine, prima di procedere con l'esame, è stato interposto del gel ultrasonografico tra la sonda e la cute.

Durante l'esecuzione dell'esame ecocardiografico i soggetti erano svegli e posti in decubito laterale destro e sinistro, ottenendo le diverse scansioni

tramite le finestre acustiche parasternale destra e sinistra, in modo da permettere l'esecuzione di un'ecocardiografia standard bidimensionale, M-mode e Doppler (*Thomas W.P., 1993*).

Le misurazioni in formato M-mode sono state ottenute da una scansione bidimensionale del ventricolo sinistro in asse corto a livello di muscoli papillari, e comprendevano: il diametro del ventricolo sinistro in fine diastole (LVDd), lo spessore del setto interventricolare in fine diastole (IVSd), lo spessore della parete del ventricolo sinistro in fine diastole (LVPWd), il diametro del ventricolo sinistro in sistole (LVDs), lo spessore del setto interventricolare in sistole (IVSs), lo spessore della parete del ventricolo sinistro in sistole (LVPWs). Sono state valutate, inoltre, la frazione di eiezione (EF, %) e la frazione di accorciamento (FS, %). La dimensione dell'atrio sinistro è stata valutata in scansione parasternale destra asse corto a livello di base cardiaca, misurando il diametro trasverso della radice aortica ed il diametro dell'atrio sinistro come descritto in letteratura. Si è considerato come normale un rapporto atrio sinistro/aorta (LA/Ao) inferiore o uguale a 1,6, mentre un valore uguale o superiore a 1,7 era indicativo di dilatazione atriale sinistra (*Rishniw M. e Erb H.N., 2000*). Il flusso di sangue attraverso le valvole atrioventricolari è stato misurato in scansione apicale sinistra posizionando il volume campione del Doppler pulsato tra i lembi mitralici in modo di misurare la velocità di picco ematico durante la diastole precoce ventricolare (E wave), la velocità di picco durante la diastole tardiva ventricolare (A wave) ed il tempo di decelerazione dell'onda E; mentre le valvole semilunari sono state valutate con la tecnica del color Doppler e del Doppler pulsato o continuo misurando la velocità di picco sistolico a livello di valvola aortica, in proiezione apicale sinistra cinque camere, e della valvola polmonare, in scansione parasternale destra asse corto a livello di base cardiaca. Tutte le variabili ecocardiografiche convenzionali e Doppler ottenute sono state comparate con i valori di normalità presenti in bibliografia (*Goncalves A.C. et al., 2002 - Cornell C.C., 2004*), per indentificare eventuali variazioni dai range di riferimento.

Criteri di esclusione

Sono stati esclusi dallo studio i soggetti in cui era stata evidenziata una malattia sistemica sottostante che potesse avere ripercussioni sull'apparato cardiaco (come morbo di Addison, insufficienza renale cronica, ipotiroidismo, etc.). Sono stati inoltre esclusi dallo studio animali portatori di malattie cardiache concomitanti (cardiomiopatia dilatativa, malformazioni congenite, endocardite) o aritmie ad andamento persistente o permanente (fibrillazione atriale, tachicardia ventricolare, tachicardia sopraventricolare).

Valutazione TDI

Lo stesso operatore che ha realizzato la valutazione ecocardiografica standard, con lo stesso apparecchio, ha compiuto un esame TDI in tutti i soggetti inclusi nello studio, avvalendosi della finestra acustica parasternale sinistra con scansione apicale asse lungo tramite la quale è stato possibile visualizzare le pareti dell'atrio sinistro. Secondo la nomenclatura proposta dalla Società Americana di Ecocardiografia sono state studiate 4 pareti definite come: parete anteriore ed inferiore (posteriore) visualizzate in scansione apicale 2 camere, e parete laterale e setto interventricolare in scansione apicale 4 camere (fig. 4.6)

Sfruttando l'immagine bidimensionale come guida anatomica è stato successivamente attivato il sistema TDI a codice di colore presente nell'apparecchio ecocardiografico, sovrapponendo così le informazioni di velocità tissutale espresse come scala di colore sull'immagine in bianco e nero. Si è posta particolare attenzione a regolare il guadagno del TDI a codice di Colore e la frequenza di ripetizione dell'impulso al fine di evitare artefatti di *aliasing*. Inoltre la scansione veniva ottimizzata in modo che le singole pareti risultassero il più possibile parallele al fascio ultrasonografico incidente.

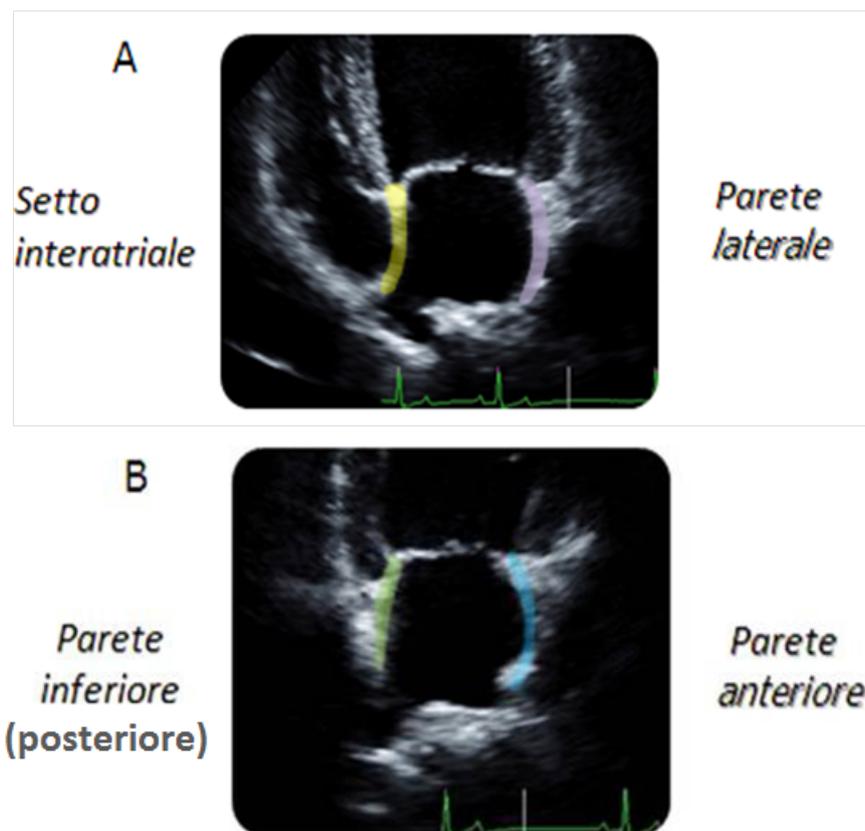


Fig. 4.6: Visualizzazione delle pareti dell'atrio di sinistra, con una scansione 4 camere (A), e 2 camere (B).

Sono stati poi acquisiti dei videoclip in formato DICOM comprendenti almeno tre cicli cardiaci completi consecutivi per ogni esame, sia nella scansione 2 camere che nella scansione 4 camere. Questi sono stati quindi analizzati *off-line* con un software di quantificazione, *Q-LABTM Advanced Quantification Software*, al fine di misurare le variabili TDI. Nello specifico si è proceduto a disegnare una regione di interesse che comprendesse ciascuna singola parete nella sua interezza. Tale regione di analisi è stata corretta quando necessario durante ogni *frame* del filmato per evitare il suo spostamento al di fuori della parete atriale durante i movimenti del ciclo cardiaco e delle fasi respiratorie (figura 4.7).

Sono stati quindi ottenuti dei grafici di rappresentazione delle modificazioni dei valori di ciascuna variabile TDI (posti sull'asse delle ordinate) nel tempo durante il ciclo cardiaco (asse delle ascisse), ottenendo

dei diagrammi simili a quanto descritto in letteratura per il ventricolo (Sirbu C., 2006)

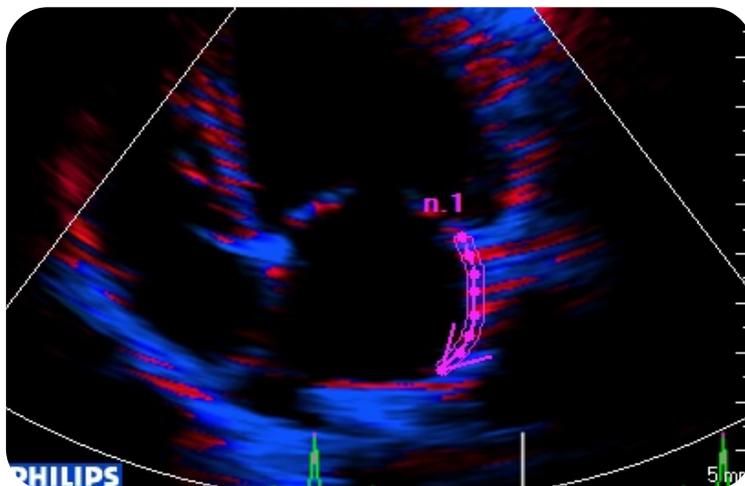


Fig. 4.7: Immagine TDI a codice di colore dell'atrio sinistro in scansione 4 camera. La regione d'interesse n.1 è stata disegnata in modo da comprendere nella sua interezza la parete laterale dell'atrio sinistro.

Per ciascuna parete si è poi proceduto a misurare il picco di velocità (V ; espressa in cm/sec), il picco di deformazione (*strain*: ϵ ; espresso in %) ed il picco di velocità di deformazione (*strain rate*: SR ; espresso in 1/sec) durante la sistole ventricolare, la diastole precoce ventricolare e la diastole tardiva ventricolare. Infine, per la valutazione dell'accoppiamento elettromeccanico, sono stati ottenuti per ogni parete, i tempi al picco (*time to peak*: TTP), di ciascuna variabile TDI, misurando il tempo (espresso in millisecondi [msec]) tra l'attivazione del nodo del seno (punto d'inizio dell'onda P sul tracciato ECG) ed il picco di V , SR e ϵ durante la diastole tardiva ventricolare. Per ogni variabile le misurazioni sono state eseguite su tre cicli cardiaci di ciascun videoclip e successivamente mediate. In tal modo è stato raccolto ed analizzato un numero complessivo di 48 variabili numeriche.

Analisi statistica

I dati di statistica descrittiva sono espressi come media \pm deviazione standard (DS). La distribuzione normale dei valori ecocardiografici è stata testata utilizzando un test di normalità D'Agostino e Pearson. Una volta accertata la normale distribuzione dei dati, si è impiegato un test ANOVA *one-way* per confrontare i valori di ciascuna variabile TDI nelle diverse quattro pareti atriali nel gruppo dei cani sani. Lo stesso test è stato inoltre impiegato per confrontare i valori di LA/Ao, di picco di onda E trans-mitralica (E wave), di picco di onda A trans mitralica (A wave), di rapporto E/A, e le variabili TDI di ciascuna parete tra i gruppi 1, 2 e 3. Quando necessario si è proceduto ad una post-analisi utilizzando un test di comparazione multipla di Tukey.

La presenza o meno di correlazione tra i parametri ecocardiografici TDI di ciascuna parete ed i valori di LA/Ao, E wave, A wave e E/A è stata analizzata impiegando un test di correlazione di Pearson. Il livello di correlazione è stato espresso come dato R^2 .

I test sono stati considerati significativi per un valore di $p < 0.05$, e quando presente indicando il grado di correlazione come $p < 0.01$.

L'analisi di statistica descrittiva è stata condotta utilizzando il programma Microsoft Excel (Microsoft Office 2007, Microsoft Corporations), mentre per la statistica analitica si è impiegato un *software* dedicato (GraphPad Prism 5).

Studio di variabilità

E' stato condotto uno studio di variabilità di misurazione delle variabili TDI su un campione ristretto di animali del gruppo 1 (cani sani). La variabilità del metodo intra-osservatore giornaliera (V_{IG}) è stata eseguita selezionando in maniera casuale 4 studi ecocardiografici. E' stata perciò effettuata la misurazione ripetuta per due volte nell'arco della stessa giornata degli indici di deformazione atriale per tutte le variabili TDI di

ciascuna parete ottenendo media e DS tra le due misurazioni di ciascuna variabile. L'analisi della variabilità intra-osservatore inter-giornaliera (V_{II}), è stata invece condotta su altri 4 soggetti sani ripetendo l'esame ecocardiografico TDI in due giornate differenti e procedendo alla misura delle variabili TDI. Si sono poi calcolati anche in questo caso media e DS tra le due misurazioni di ciascuna variabile TDI. La variabilità è stata, infine, quantificata utilizzando il coefficiente di varianza (CV), espresso come un valore percentuale e calcolato secondo la formula:

$$CV = DS / \text{media} * 100.$$

Il grado di variabilità è stato arbitrariamente definito come segue: CV <5%, variabilità molto bassa; 5-15%, variabilità bassa; 16-25% variabilità moderata; >25% variabilità alta (*Schwarzwalder C.C., 2009*).

4.10 RISULTATI

Composizione del campione

Applicando i criteri d'inclusione precedentemente esposti sono stati arruolati un totale di 39 cani divisi in 3 gruppi. Il gruppo 1 comprende 15 soggetti sani di 10 razze differenti, includendo 9 femmine (60 %), di cui 2 sterilizzate, e 6 maschi (40%) di cui 3 castrati. La media dell'età dei cani esaminati è di 6,6 anni (DS 2,5), con un peso medio di 17,8 Kg (DS 9,6). (Tabella 7)

<i>Caso</i>	<i>Razza</i>	<i>Sesso</i>	<i>Età(anni)</i>	<i>Peso (Kg)</i>
caso 1	Meticcio	F	6	17
caso 2	Meticcio	MC	6	34
caso 3	Cocker S.	FS	10	12
caso 4	GoldenR.	FS	7	28
caso 5	GoldenR.	MC	8	32
caso 6	Amstaff	FS	7	34
caso 7	Cocker S.	M	8	13
caso 8	Boxer	F	4	22
caso 9	Amstaff	F	3	23
caso 10	Yorkshire	F	11	5
caso 11	Volpino	M	3	7,4
caso 12	Cocker S.	F	8	12,5
caso 13	Maltese	M	3	3,3
caso 14	Schnauzer N.	F	7	11,2
caso 15	Australian S.	MC	9	11,8
Media			6,6	17,8
DS			2,5	9,6

Tabella 7: Segnalamento dei cani sani esaminati (gruppo A). F, femmina; M, maschio; MC, maschio castrato; FS, femmina sterilizzata.

Il gruppo di cani affetti da malattia mitralica cronica (MVD) (gruppi 2 e 3) era formato da 24 cani. Tali soggetti erano stati condotti a visita per una serie di differenti motivazioni: in 1 caso (4%) il proprietario riferiva un evento sincope, in 5 casi (20%) presentavano tosse persistente, in 6 casi (25%) vi era dispnea, 3 casi (13%) erano pervenuti per un controllo

preoperatorio, ed infine in 9 casi (38%), a seguito di una visita di routine, era stato palesato un soffio cardiaco che necessitava un approfondimento.

In tutti i cani di questo gruppo durante l'esame clinico è stata osservata la presenza di un soffio cardiaco di vario grado all'auscultazione. L'esame radiografico del torace ha evidenziato, nella quasi totalità dei soggetti esaminati, una cardiopatia del settore di sinistra (raramente di destra o di entrambi i settori cardiaci), ed in 5 casi vi era associata un'interstiziopatia di probabile natura edemigena. Il tracciato elettrocardiografico è risultato nei limiti della norma in molti dei soggetti osservati, ma in 6 casi (25%) è stato rilevato un disturbo nella formazione degli stimoli (come extrasistoli atriali o tachicardie sinusali), e in 2 casi (8%) ha mostrato segni di ingrandimento atriale sinistro. In tutti i cani l'ecocardiografia ha messo in evidenza la presenza di un ispessimento dei lembi valvolari mitralici, il più delle volte associato ad un loro prollasso atriale in fase sistolica, con la presenza di un jet di rigurgito mitralico. Inoltre 16 soggetti (66%) mostravano segni di sovraccarico volumetrico dell'atrio sinistro, e in alcuni casi era evidente anche un'ipercinesia setto parietale (3 cani), ed una deplezione volumetrica del ventricolo destro (1 cane).

All'interno del gruppo di animali malati sono stati inclusi 11 femmine (45%) di cui 5 sterilizzate, e 13 maschi (55%), con un'età media di 11 anni (DS 2,9) ed un peso medio di 9,6 Kg (DS 4,8), di diverse razze: 10 meticci (40%), 2 Yorkshire (8%), 2 Shih-Tzu (8%), 2 Barboncini (8%), 1 Epagneul Breton (4%), 1 CKCS (4%), 1 Dogo Argentino (4%), 1 Setter Inglese (4%), 1 Beagle (4%), 1 Volpino Italiano (4%), 1 Spinone Italiano (4%).

I cani del gruppo MVD sono stati suddivisi in due sottogruppi sulla base della presenza o meno di dilatazione atriale sinistra, indicata da un valore di cut-off di rapporto atrio sinistro/aorta (LA/Ao) superiore a 1,6, come indicazione di dilatazione atriale. In tabella 8 sono riportati i dati di statistica descrittiva dei due gruppi di animali affetti da MVD. E' inoltre riportato il numero di soggetti per ciascun gruppo facenti parte di 3 gradi di insufficienza cardiaca congestizia secondo la classificazione ACVIM

(American College of Veterinary Internal Medicine) (Atkins C., et al., 2009).

Gruppi	Sesso		Età		Peso		Classe ACVIM		
	M	F	media	DS	media	DS	B1	B2	C
G 2	3	5	9	± 3,5	10,3	± 4,1	7	1	0
G 3	10	6	12	± 2,1	9,3	± 5,3	1	5	10
totale	13	11	11	± 2,9	9,6	± 4,8	8	6	10

Tabella 8: Segnalamento dei cani inseriti nei gruppi 2 (senza dilatazione atriale sinistra) e 3 (con dilatazione atriale sinistra). DS = deviazione standard.

Al momento della nostra valutazione solo 6 soggetti (25%) assumevano farmaci cardioattivi, di cui furosemide e benazepril in 5 casi, e pimobendan in 2. Per i soggetti che invece non erano ancora stati sottoposti a terapia cardiaca prima della valutazione cardiologia (75%), in 12 casi non si è ritenuto necessario iniziare alcun trattamento, mentre in 6 casi è stata suggerita una terapia con furosemide, benazepril e pimobendan.

Profili generali di V, ϵ e SR

In tutti gli esami eseguiti sono state ottenute immagini TDI della deformazione longitudinale dell'atrio sinistro con una buona qualità di visualizzazione. Da queste, tramite un software di quantificazione, è stato ricavato un diagramma spettrale per ognuno degli indici di deformazione TDI derivato: V, ϵ e SR.

Sia il profilo delle V che quello dello SR hanno sempre mostrato una onda sistolica positiva (S'), che insorge dopo il complesso QRS del tracciato ECG, seguita da due onde diastoliche negative, la prima in diastole precoce (E') e la seconda, che segue l'onda P del tracciato ECG, in diastole tardiva (A') (fig. 4.8A e B)

Il profilo spettrografico dello ϵ invece è composto da un'onda sistolica positiva (S'), seguita da una rapida diminuzione del valore di ϵ , che si arresta comunque su valori positivi (picco dell'onda E'), e che termina infine con un'onda negativa indotta dalla contrazione atriale in diastole tardiva (A') (fig. 4.8 C). In tutti i casi il tempo al picco (TTP) è stato misurato dall'inizio dell'onda P sul tracciato elettrocardiografico ed il picco della deflessione in diastole tardiva (onda A').

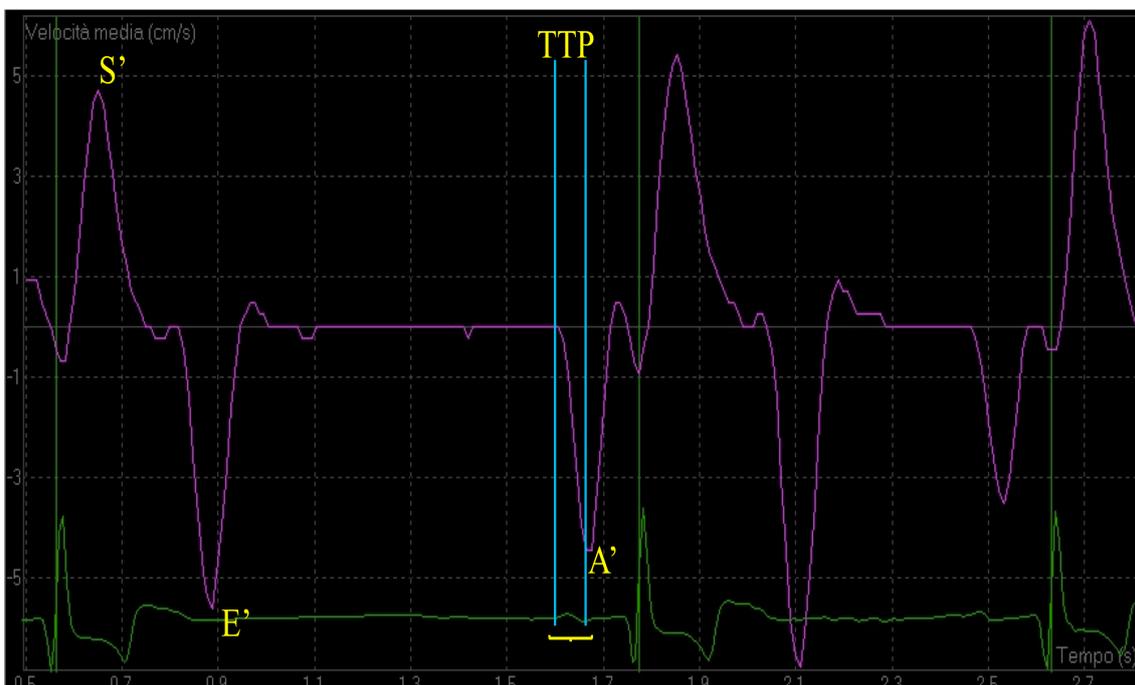


Fig. 4.8 A: Esempio di un normale profilo delle velocità miocardiche longitudinali dell'atrio sinistro in un cane sano. S' , onda sistolica; E' , onda diastolica precoce; A' , onda diastolica tardiva; TTP, *time to peak*.

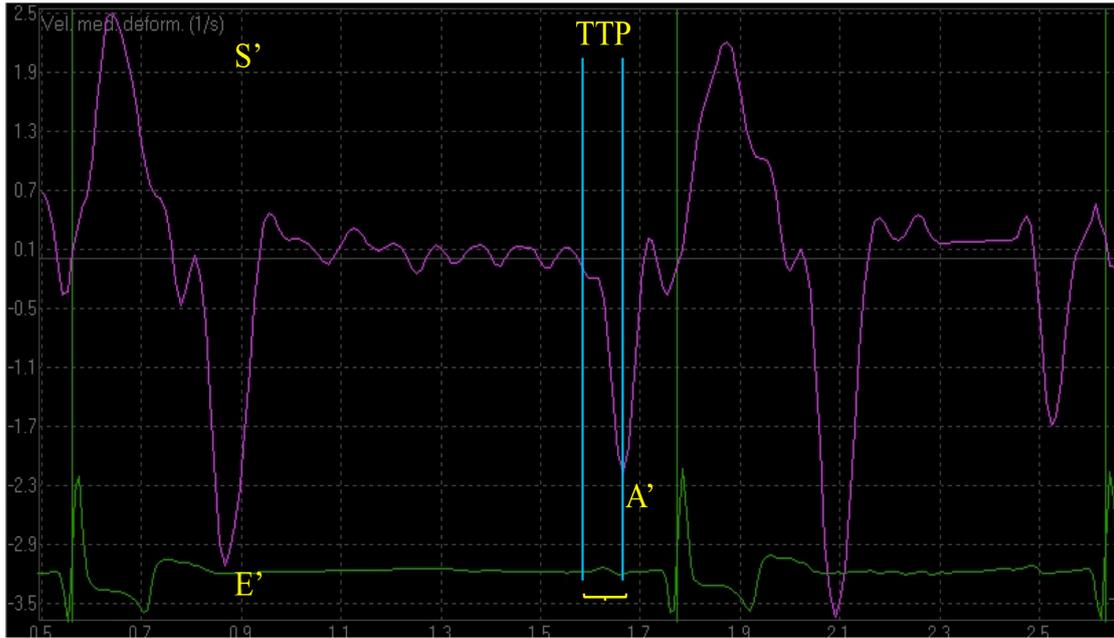


Fig. 4.8 B: Esempio di un normale profilo dello strain rate miocardico (SR) longitudinale dell'atrio sinistro in un cane sano. S', onda sistolica; E', onda diastolica precoce; A', onda diastolica tardiva; TTP, *time to peak*.

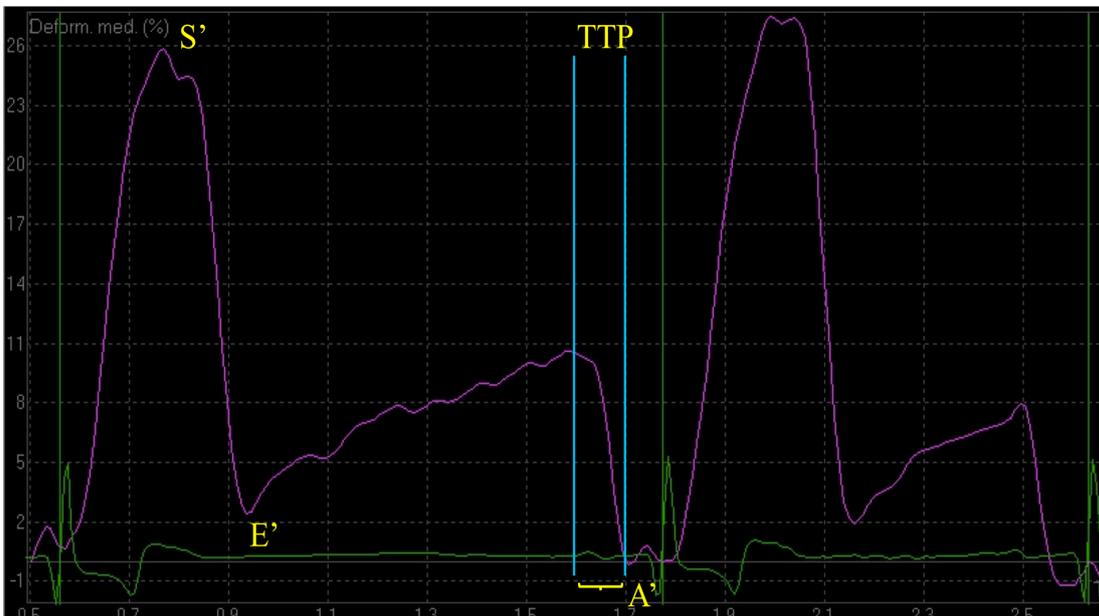


Fig. 4.8 C: Esempio di un normale profilo dello strain miocardico (ϵ) longitudinale dell'atrio sinistro in un cane sano. S', onda sistolica; E', onda diastolica precoce; A', onda diastolica tardiva; TTP, *time to peak*.

Analisi delle variabili TDI dell'atrio sinistro dei diversi gruppi

Sono state sottoposte ad analisi statistica per rilevare le differenze tra i diversi gruppi alcune variabili bidimensionali (rapporto atrio sinistro/aorta [LA/Ao]), alcune variabili Doppler pulsato (velocità di picco dell'onda E [E wave]; velocità di picco dell'onda A [A wave]; rapporto della velocità di picco dell'onda E ed A [E/A]) e tutte le variabili TDI dell'atrio sinistro misurate (tabella 9).

Questo ha permesso di rilevare la presenza di una differenza statistica per alcuni valori, come: il rapporto LA/Ao fra il gruppo 1 ed il gruppo 3, e fra il gruppo 2 ed il gruppo 3, mentre non era statisticamente significativa la differenza dei valori di LA/Ao fra il gruppo 1 ed il gruppo 2 (fig. 4.9 A); per i valori di E wave fra il gruppo 1 ed il gruppo 3, fra il gruppo 1 ed il gruppo 2, e fra il gruppo 2 ed il gruppo 3 (fig. 4.9 B); per i valori di A wave fra il gruppo 1 ed il gruppo 3, e fra il gruppo 1 ed il gruppo 2, non esiste differenza statistica fra il gruppo 1 e il gruppo 2; (fig. 4.9 C); per i valori Doppler del rapporto E/A fra il gruppo 1 ed il gruppo 3, e fra il gruppo 1 ed il gruppo 2; mentre questi valori non presentavano differenze statistiche fra il gruppo 1 e 2 (fig. 4.9 D).

Relativamente alle variabili TDI è stata riscontrata differenza statistica per i valori di: SR del setto interatriale in diastole precoce fra il gruppo 1 ed il gruppo 3 (fig. 4.10 A); SR della parete laterale in sistole fra il gruppo 1 ed il gruppo 2 (fig. 4.10 B); V della parete posteriore in diastole tardiva fra il gruppo 1 ed il gruppo 2 (fig. 4.10 C); e per i valori del TTP della velocità della parete posteriore fra il gruppo 1 ed il gruppo 3, e fra il gruppo 2 ed il gruppo 3 (Fig. 4.10 D). Per alcune altre variabili però, pur non essendo risultata una differenza statisticamente significativa fra i 3 gruppi, è emersa comunque la presenza di un *trend* di variazione. In particolare i valori della V sistolica e dello ϵ diastolico precoce della parete anteriore e dello SR diastolico precoce della parete inferiore, sono più alti nel gruppo 1, rispetto al gruppo 2 ed al gruppo 3, e quest'ultimo presenta i valori più bassi.

Variabile		Gruppo 1	Gruppo 2	Gruppo 3	
LA/Ao		1.3 ± 0.13	1.4 ± 0.2	2.0 ± 0.3*,#	
E wave		72.2 ± 14.8	92.7 ± 16.4*	134.1 ± 24.3*,#	
A wave		61.4 ± 16.6	90.1 ± 24.2*	87.4 ± 21.8*	
Rapporto E/A		1.23 ± 0.29	1.11 ± 0.36	1.6 ± 0.52*,#	
IAS	diastole precoce	V (cm/sec)	-3.1 ± 0.9	-3.4 ± 0.8	-3.5 ± 1.0
		ε (%)	10.8 ± 5.7	10.3 ± 5.6	8.0 ± 5.6
		SR (1/sec)	-1.8 ± 0.8	-3.0 ± 1.3	-4.6 ± 7.3*
	sistole	V (cm/sec)	4.3 ± 1.3	4.5 ± 1.0	3.7 ± 1.2
		ε (%)	21.9 ± 7.2	24.7 ± 7.4	23.5 ± 8.8
		SR (1/sec)	2.2 ± 1.1	2.6 ± 1.5	2.9 ± 1.4
	diastole tardiva	V (cm/sec)	-2.6 ± 0.8	-3.5 ± 1.2	-3.0 ± 1.1
		ε (%)	-0.9 ± 1.2	0.1 ± 3.0	-1.3 ± 1.7
		SR (1/sec)	-2.7 ± 1.4	-2.7 ± 1.7	-2.2 ± 1.2
	TTP	ttp	68.2 ± 18.8	63.3 ± 16.4	75.1 ± 36.9
		ttp ε	98.9 ± 13.5	88.9 ± 10.1	95.7 ± 15.9
		ttp SR	58.2 ± 12.4	58.5 ± 11.1	49.5 ± 12.5
LW	diastole precoce	V (cm/sec)	-4.6 ± 1.3	-4.4 ± 1.3	-3.8 ± 1.4
		ε (%)	5.3 ± 4.0	7.0 ± 2.8	5.4 ± 4.1
		SR (1/sec)	-3.3 ± 1.3	-3.2 ± 1.4	-3.1 ± 0.9
	sistole	V (cm/sec)	4.8 ± 1.1	5.0 ± 1.7	4.2 ± 1.3
		ε (%)	23.1 ± 8.9	26.7 ± 8.1	20.0 ± 8.8
		SR (1/sec)	1.7 ± 1.0	2.8 ± 0.6*	2.2 ± 1.0
	diastole tardiva	V (cm/sec)	-3.8 ± 0.8	-3.3 ± 3.3	-3.3 ± 1.4
		ε (%)	-0.9 ± 1.1	-0.4 ± 1.3	-1.0 ± 1.1
		SR (1/sec)	-2.8 ± 1.3	-2.3 ± 1.5	-2.0 ± 0.9
	TTP	ttp	65.1 ± 10.8	59.6 ± 11.6	63.6 ± 14.1
		ttp ε	100.5 ± 14.6	98.5 ± 15.7	95.3 ± 21.1
		ttp SR	62.3 ± 11.4	68.1 ± 12.8	67.5 ± 21.7
AW	diastole precoce	V (cm/sec)	-4.2 ± 1.5	-3.5 ± 1.0	-3.8 ± 1.1
		ε (%)	8.6 ± 4.4	6.7 ± 5.8	5.8 ± 5.1
		SR (1/sec)	-2.8 ± 0.9	-3.3 ± 1.5	-2.9 ± 1.2
	sistole	V (cm/sec)	4.9 ± 1.3	4.5 ± 1.7	3.8 ± 1.4
		E (%)	24.8 ± 7.2	21.2 ± 10.7	20.8 ± 10.2
		SR (1/sec)	1.7 ± 1.1	1.6 ± 0.8	1.8 ± 1.2
	diastole tardiva	V (cm/sec)	-3.5 ± 1.2	-3.2 ± 0.9	-2.9 ± 1.3
		ε (%)	-1.4 ± 1.3	-2.0 ± 2.6	-0.7 ± 0.8
		SR (1/sec)	-3.2 ± 1.1	-3.7 ± 1.7	-2.4 ± 1.2
	TTP	ttp	66.3 ± 11.7	66.9 ± 11.8	72.0 ± 18.1
		ttp ε	107.9 ± 16.9	97.4 ± 10.0	100.1 ± 20.8
		ttp SR	61.7 ± 11.5	69.1 ± 9.5	69.5 ± 19.8
PW	diastole precoce	V (cm/sec)	-3.3 ± 1.3	-2.5 ± 0.9	-2.9 ± 0.7
		ε (%)	7.8 ± 5.7	8.3 ± 2.6	7.4 ± 4.9
		SR (1/sec)	-2.1 ± 1.3	-2.6 ± 1.1	-2.7 ± 1.3
	sistole	V (cm/sec)	4.4 ± 1.4	4.0 ± 1.2	3.5 ± 0.9
		ε (%)	23.2 ± 9.4	24.9 ± 5.7	25.3 ± 8.8
		SR (1/sec)	2.3 ± 1.3	2.8 ± 0.9	2.6 ± 1.2
	diastole tardiva	V (cm/sec)	-2.4 ± 1.2	-3.3 ± 1.2*	-3.0 ± 0.9
		ε (%)	-1.8 ± 2.2	-0.3 ± 1.8	-0.9 ± 1.5
		SR (1/sec)	-2.3 ± 1.3	-2.2 ± 1.1	-3.2 ± 2.7
	TTP	ttp	58.9 ± 12.3	54.9 ± 11.5	81.5 ± 34.4
		ttp ε	96.7 ± 14.0	96.1 ± 9.8	98.0 ± 21.4
		ttp SR	61.9 ± 18.5	59.6 ± 10.0	58.4 ± 23.5*,#

Tabella 9: Valori delle variabili ecocardiografiche standard e TDI dell'atrio sinistro e differenze statistiche. LA/Ao, rapporto atrio sinistro/aorta; E wave, picco dell' onda E del flusso mitralico; A wave, picco dell' onda A del flusso mitralico; E/A, rapporto onda E-onda A; ; V, velocità; S, strain; SR, strain rate; TTP, time to pick; AW, parete anteriore; IAS, setto interatriale; LW, parete laterale; PW, parete posteriore *, p<0,05 rispetto al gruppo 1, #, p<0,05 rispetto al gruppo 2.

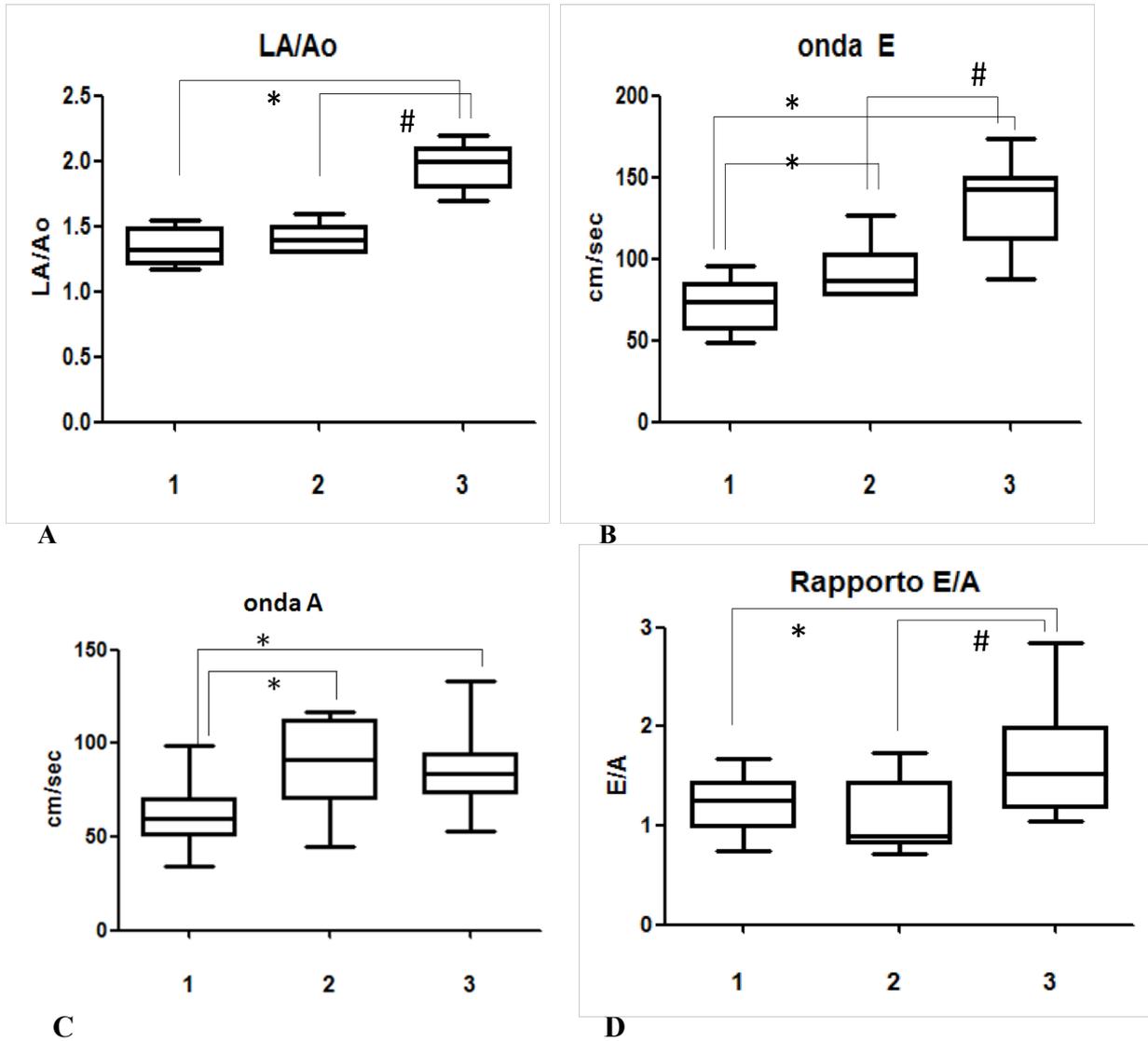
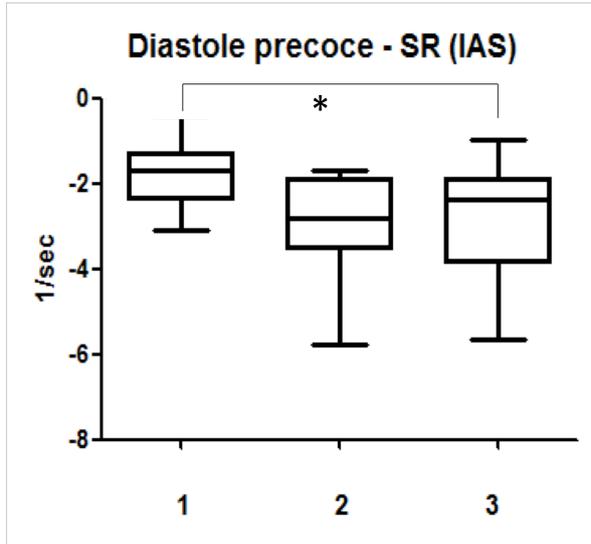
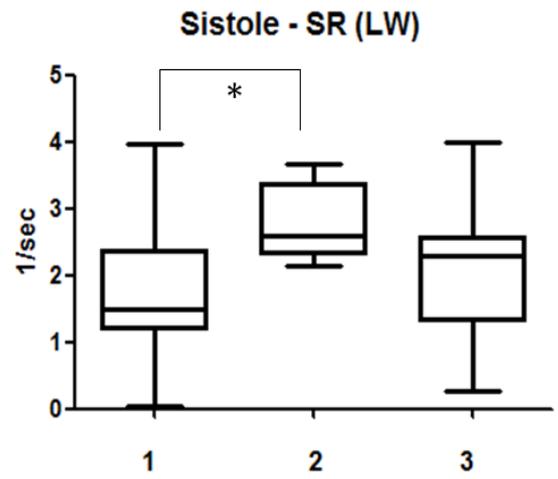


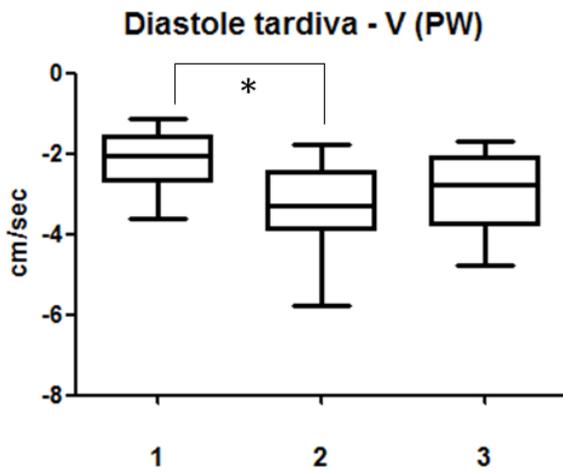
Fig. 4.9: Boxplots delle differenze statistiche fra gli indici ecocardiografici standard e i gruppi dello studio. Ogni boxplot rappresenta i valori minimo e massimo, la mediana è rappresentata dalla linea all'interno del box, le barre esterne rappresentano il 95% percentile. 1, gruppo 1; 2, gruppo 2; 3 gruppo 3; LA/Ao, rapporto atrio sinistro/aorta; onda E, picco dell' onda E del flusso mitralico; onda A picco dell' onda A del flusso mitralico *, $p < 0,05$ rispetto al gruppo 1, #, $p < 0,05$ rispetto al gruppo 2.



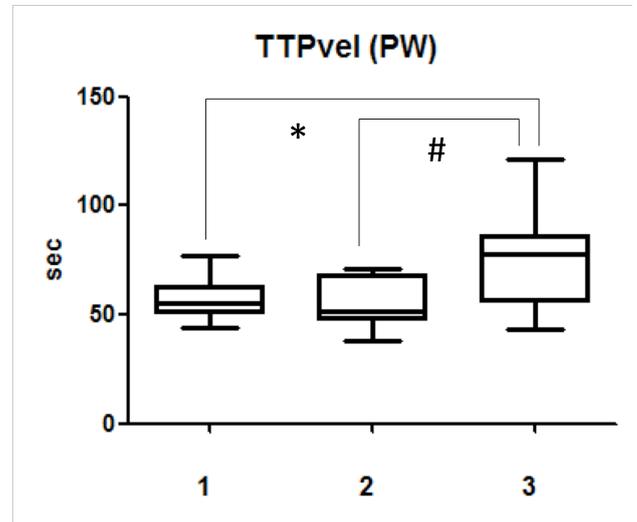
A



B



C



D

Fig. 4.10: Boxplots delle differenze statistiche fra i valori TDI ed i gruppi dello studio. Ogni boxplot rappresenta i valori minimo e massimo, la mediana è rappresentata dalla linea all'interno del box, le barre esterne rappresentano il 95% percentile. 1, gruppo 1; 2, gruppo 2; 3 gruppo 3; V, velocità; S, strain; SR, strain rate; AW, parete anteriore; IAS setto interatriale; LW, parete laterale; PW, parete posteriore; *, $p < 0,05$ rispetto al gruppo 1, #, $p < 0,05$ rispetto al gruppo 2

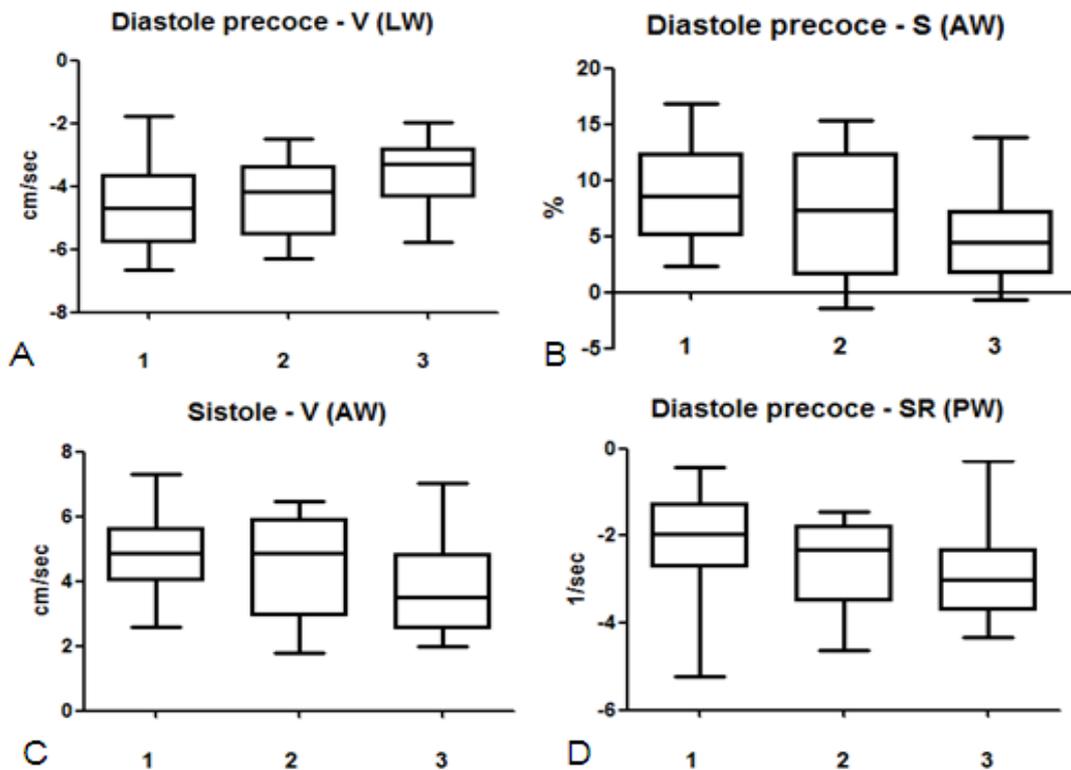


Fig. 4.11: Boxplots de i valori TDI nelle varie pareti. Ogni boxplot rappresenta i valori minimo e massimo, la mediana è rappresentata dalla linea all'interno del box, le barre esterne rappresentano il 95% percentile. Queste variabili non hanno evidenziato differenze statisticamente significative ma mostrano un gradiente. V, velocità; SR, strain rate; AW, parete anteriore; IAS, setto interatriale; LW, parete laterale; PW, parete posteriore. *, $p < 0,05$ rispetto ai valori del IAS, #, $p < 0,05$ rispetto ai valori della LW.

Mentre al contrario, i valori della V diastolica precoce della parete laterale tendono all'aumento nel gruppo 3 rispetto al gruppo 1 e 2 (fig. 4.11).

Infine sono state analizzate le differenze per i valori TDI tra le differenti 4 pareti nel gruppo di cani sani. In questo modo è stata messa in evidenza l'esistenza di una differenza statistica per i valori di: SR in diastole precoce fra il setto interatriale e la parete laterale, e fra questa e la parete inferiore (fig. 4.12 A); V in diastole precoce fra il setto interatriale e la parete laterale e anteriore, e fra la parete laterale e la parete inferiore (fig. 4.12 B); V in diastole tardiva fra il setto interatriale e la parete laterale e anteriore, fra la parete laterale e la parete inferiore e quella anteriore (fig. 4.12 C).

Non sono emerse differenze statistiche per i valori di TTP fra le varie pareti, indicando come per questi non esista un gradiente statisticamente importante.

Sono state evidenziate delle correlazioni statisticamente significative tra alcune variabili TDI e le variabili ecocardiografiche standard presentate in tabella 9. Si è osservato che il rapporto LA/Ao si correla positivamente con i valori della V diastolica precoce e tardiva della parete laterale, e negativamente con le V sistoliche della parete laterale ed anteriore (fig. 4.13 A). L'onda E del flusso mitralico presenta correlazioni positive con le V sistoliche delle pareti anteriore, settale e laterale, e positive con la V in diastole tardiva della parete laterale (fig. 4.13 B). I valori dell'onda A del flusso mitralico mostrano correlazioni positive con i valori di V diastoliche precoci della parete laterale e di SR sistolici della parete posteriore, e negative con le V diastoliche tardive della parete posteriore (fig. 4.13 C). Infine anche il rapporto E/A è stato messo in relazione agli indici TDI, mostrando correlazioni positive con le V diastoliche tardive delle pareti laterali e posteriori e con i valori di SR diastolici tardivi della parete anteriore, e correlazioni negati con i valori di ϵ diastolici precoci della parete anteriore (fig. 4.13 D).

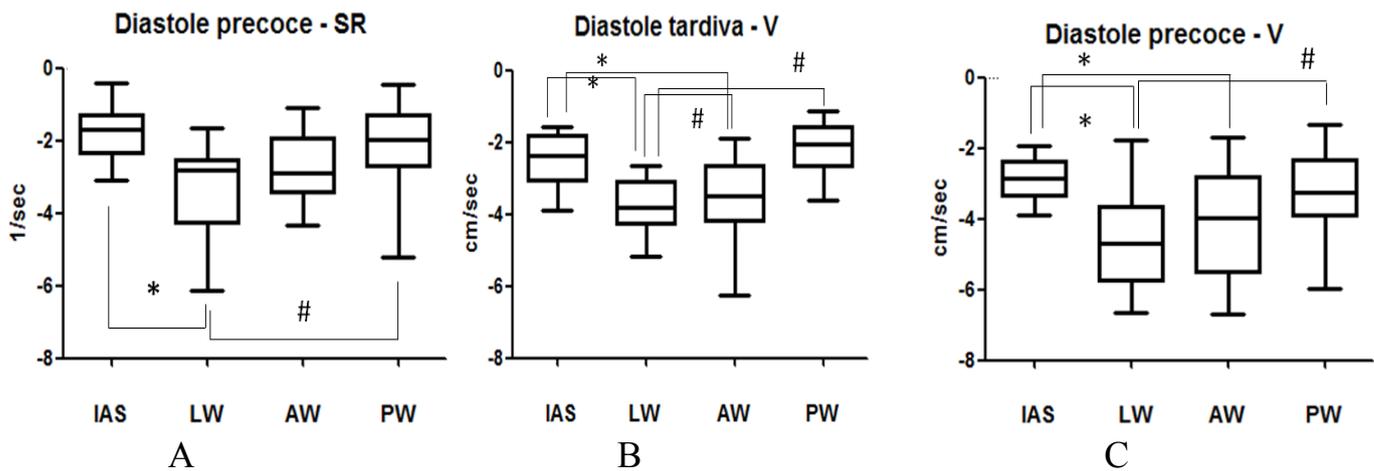
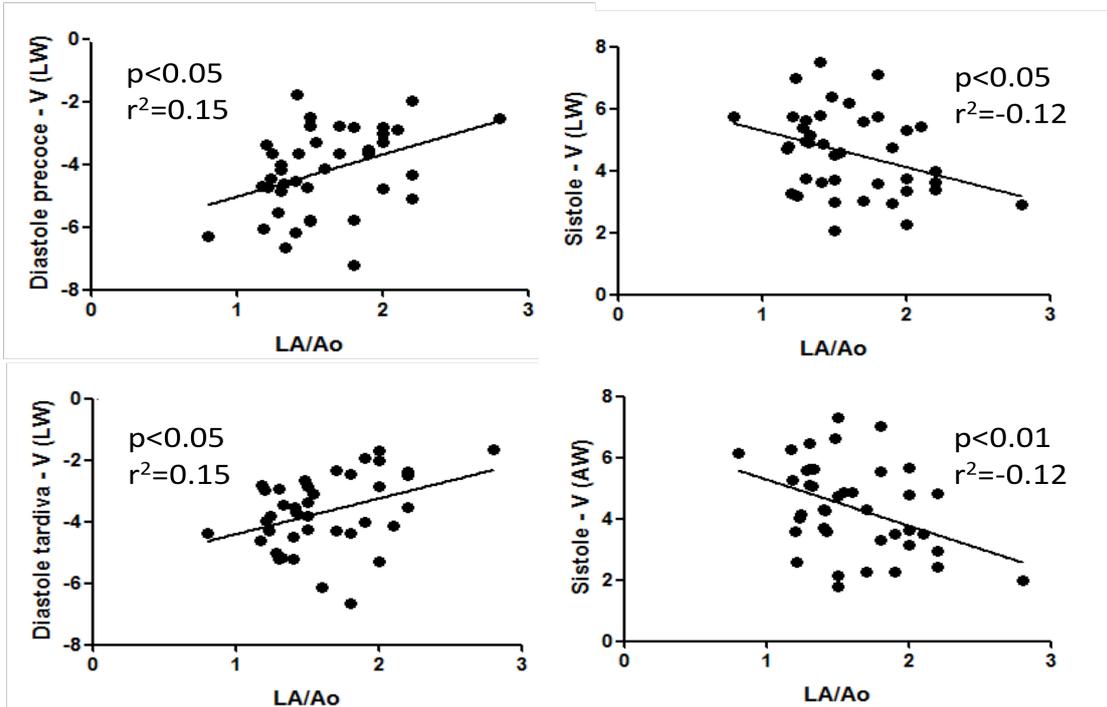
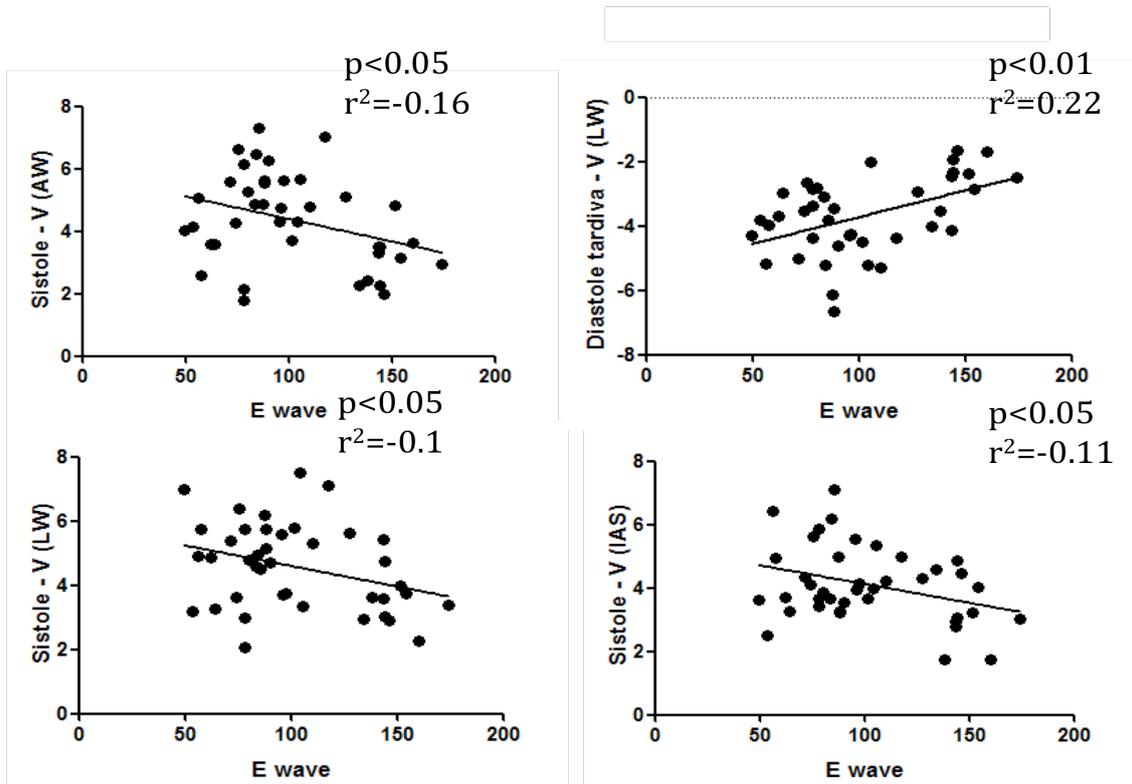


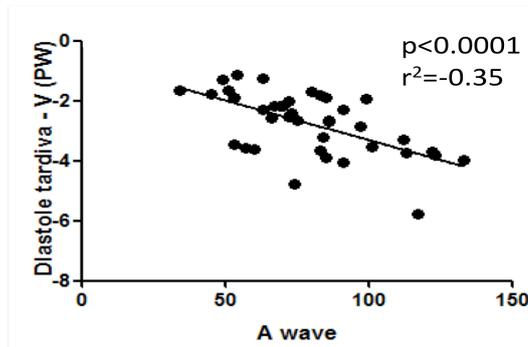
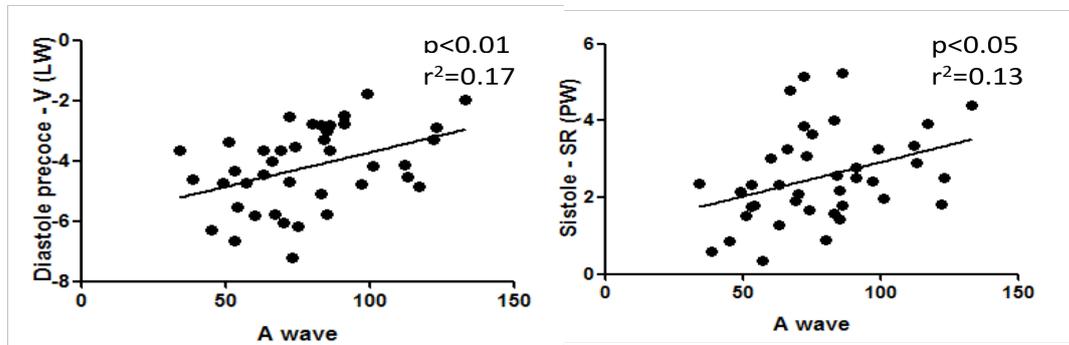
Fig. 4.12: Boxplots delle differenze statistiche fra i valori TDI nelle varie pareti. Ogni boxplot rappresenta i valori minimo e massimo, la mediana è rappresentata dalla linea all'interno del box, le barre esterne rappresentano il 95% percentile. V, velocità; SR, strain rate; AW, parete anteriore; IAS, setto interatriale; LW, parete laterale; PW, parete posteriore. *, p < 0,05 rispetto ai valori del IAS, #, p < 0,05 rispetto ai valori della LW.



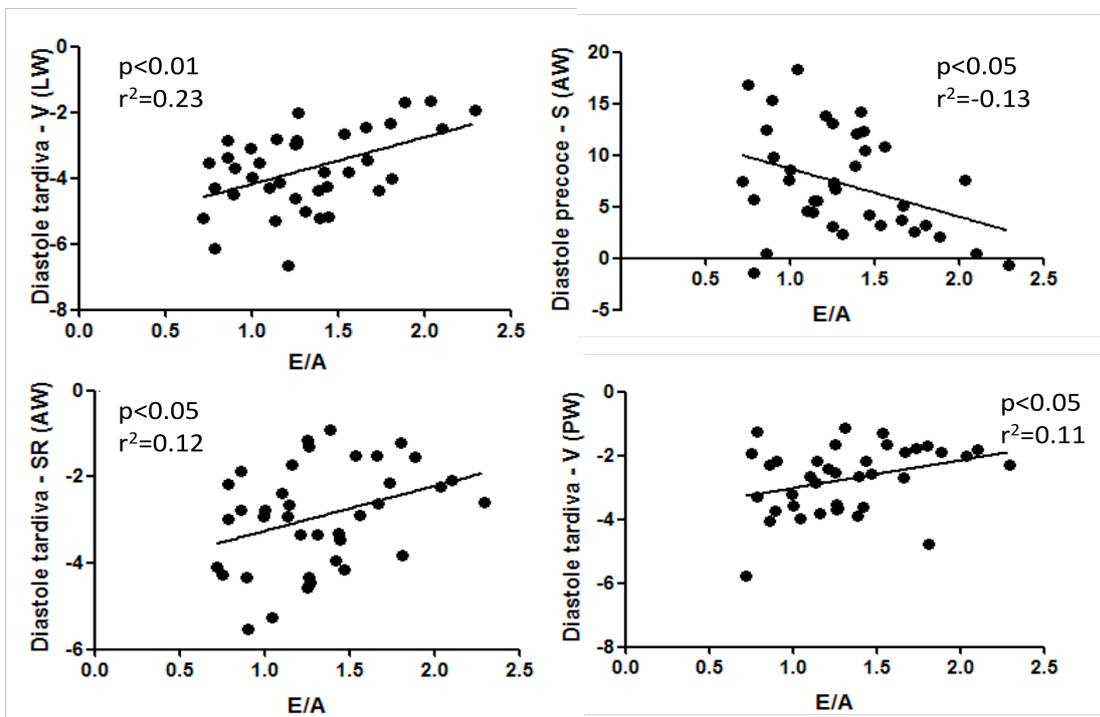
A



B



C



D

Fig. 4.13: Grafici di regressione lineare delle correlazioni esistenti fra i valori ecocardiografici standard e i valori ecocardiografici TDI. V, velocità; ϵ , strain; SR, strain rate; TTP, time to pick; AW, parete anteriore; IAS (setto interatriale; LW, parete laterale; PW, parete posteriore; A wave, onda A flusso del trans mitralico; E wave, onda E del flusso trans mitralico.

Variabilità del metodo

La variabilità del metodo è stata testata su un totale di 48 variabili. Dall'analisi della variabilità del metodo intra-osservatore giornaliera (V_{IG}), 20 di queste (41%) risultano avere un CV molto basso, 16 basso (34%), 5 moderato (10%) e 7 alto (15%). In particolare si nota una variabilità molto bassa per tutte le misurazioni del TTP (solo il TTP_{ϵ} della parete inferiore presenta una variabilità bassa), e delle velocità in sistole, per tutte le pareti, ed in diastole precoce, dove solo la parete posteriore ha una variabilità bassa. Mentre il CV dello ϵ in diastole precoce risulta essere alto in ognuna delle pareti esaminate (tabella 10). L'analisi della variabilità intra-osservatore inter-giornaliera (V_{II}) ha mostrato un'unica variabilità molto bassa (TTP_{ϵ} del setto) (2%), 15 basse (31%), 13 moderate (27%) e 19 alte (39%). All'infuori delle variabili TTP (di cui 9 su 12 presentano variabilità basse) sono state registrate variabilità tendenzialmente moderate/alte per le pareti anteriore e posteriore e per il setto, ed in particolare, come per la V_{IG} , le variabili ϵ in diastole precoce risultano essere alte in ognuna delle pareti esaminate (Tabella 10).

Variabili		V_{IG}				V_{II}			
		IAS	LW	AW	PW	IAS	LW	AW	PW
diastole tardiva	V (cm/sec)	-4,8	-4,0	-4,7	-5,9	-16,1	-11,0	-43,8	-20,8
	ϵ (%)	-3,2	61,0	27,0	13,1	45,4	-15,7	31,2	14,4
	SR (1/sec)	-32,2	-7,2	-9,7	-18,4	-24,7	-19,4	-44,8	-50,4
sistole	V (cm/sec)	1,8	2,2	2,1	3,9	10,4	8,6	34,4	12,3
	ϵ (%)	6,7	19,7	4,3	7,8	25,2	18,4	15,0	15,1
	SR (1/sec)	10,3	22,7	5,0	6,1	32,6	21,8	15,4	28,2
diastole precoce	V (cm/sec)	-13,3	-8,1	-10,8	-16,8	-32,4	-9,5	-42,4	-43,3
	ϵ (%)	-55,7	-51,6	-32,0	-34,5	-56,3	-47,1	-73,4	-50,4
	SR (1/sec)	-23,4	-11,3	-6,3	-10,8	-32,9	-17,6	-38,5	-32,5
TTP	TTP_v	4,2	1,9	3,5	4,1	10,4	8,2	17,3	7,0
	TTP_{ϵ}	2,8	2,1	2,3	5,0	1,5	5,1	9,1	8,5
	TTP_{sr}	4,3	2,7	4,1	3,4	15,7	7,2	11,0	10,3

Tabella 10: Valori del CV delle diverse variabili. V_{IG} , variabilità intra-osservatore giornaliera; V_{II} , variabilità intra-osservatore inter-giornaliera; V, velocità; ϵ , strain; SR, strain rate; TTP, time to pick; AW, parete anteriore; IAS (setto interatriale; LW, parete laterale; PW, parete posteriore).

4.11 DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

Nella tesi presentata abbiamo individuato tre principali ordini di risultati. In prima istanza è stato dimostrato che l'ecocardiografia a Doppler tissutale (TDI) rappresenta una metodica valida ed applicabile per analizzare gli indici di V , ϵ e SR dell'atrio sinistro in una popolazione di cani sani e di animali affetti da malattia mitralica cronica (MVD) a decorso spontaneo. In questo modo sono stati forniti dei valori di normalità delle variabili di deformazione regionale atriale sinistra in questa specie, da impiegare nella pratica clinica per studiare la disfunzione atriale in corso di miocardiopatie, valvulopatie o disturbi del ritmo atriale, come la fibrillazione atriale, il *flutter* atriale o la tachicardia atriale focale. In secondo luogo abbiamo valutato la presenza di differenze nella funzionalità atriale tra cani sani e cani affetti da MVD con vari gradi di dilatazione atriale sinistra, riscontrando alcune differenze significative tra i gruppi. Infine, il terzo risultato del presente lavoro riguarda l'individuazione di una blanda correlazione tra alcune variabili TDI dell'atrio sinistro con parametri ecocardiografici standard di funzionalità atriale sinistra.

Le caratteristiche demografiche della popolazione dei cani affetti da MVD (gruppi 2 e 3) presenti in questo lavoro riflettono i dati presenti in letteratura su altri gruppi di animali con caratteristiche simili di malattia. Abbiamo, infatti, riscontrato una maggiore prevalenza di cani di sesso maschile nella classe più avanzata di malattia, mentre il gruppo di soggetti senza sintomi clinici presentava un rapporto maschi/femmine vicino ad 1. Inoltre l'età ed il peso medi degli animali inseriti nello studio e la prevalenza delle razze studiate conferma il fatto che la MVD insorge in soggetti di taglia medio-piccola e di età avanzata, suggerendo una predisposizione genetica per questa classe di animali, rispetto i cani di grossa taglia (*Buchanan J.W., 1977; Atkins C, 2009*).

Per quanto riguarda lo studio TDI abbiamo riscontrato dei profili di deformazione atriale sinistra pressoché costanti e riprodotti in tutti i cani, e sovrapponibili a quelli rinvenuti nell'uomo. Lo spettrogramma della V e dello SR ha mostrato un picco positivo durante la sistole ventricolare, e due distinti picchi con valore negativo durante la diastole precoce e tardiva. Il tracciato dello ϵ è formato da picchi con valori positivi durante la sistole, valori positivi anche in diastole precoce ed un picco negativo in diastole tardiva. Analizzando il profilo di ϵ possiamo notare come questo rispecchi

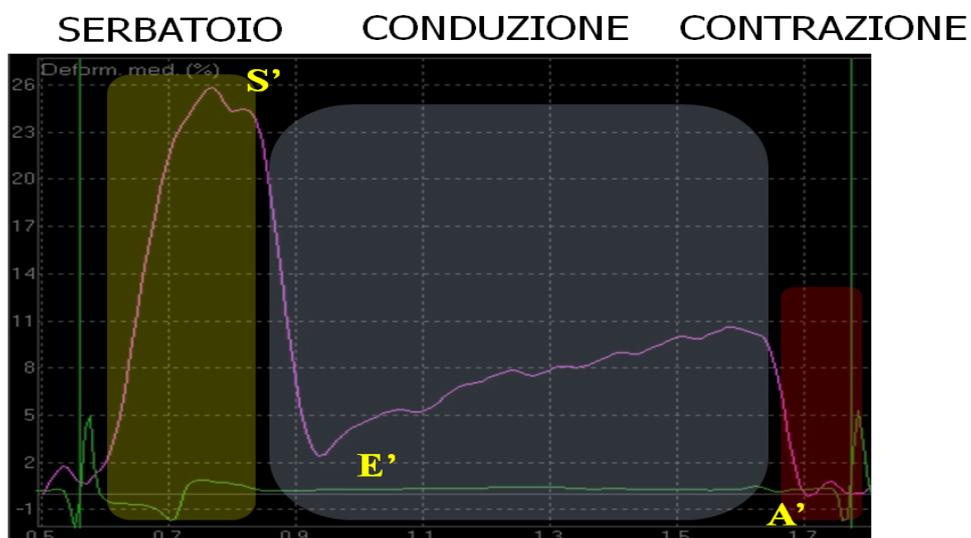


Fig. 4.14: Esempio di un profilo di ϵ in un cane sano. Si noti come ogni onda di ϵ corrisponda ad una fase fisiologica dell'atrio sinistro. ϵ , strain.

le diverse funzioni dell'atrio durante il ciclo cardiaco (fig. 4.14): funzione di serbatoio, che va dalla chiusura della valvola mitralica al picco positivo di ϵ (S') dovuto al riempimento atriale indotto dal sangue delle vene polmonari; funzione di conduzione, che inizia subito dopo S' (in concomitanza con la riapertura della mitrale) e comprende un'iniziale riduzione della percentuale di deformazione, in quanto per il gradiente pressorio che si viene a formare fra atrio e ventricolo il sangue passa in ventricolo sinistro e l'atrio si rilascia fino ad un picco di ϵ in diastole precoce (E') che quindi aumenta lievemente (diastasi); fase di contrazione, segue la precedente con una nuova riduzione dei valori di ϵ questa volta

fino ad un picco negativo (A') indotto dalla contrazione atriale (fig. 4.14) (Sirbu C., 2006; Quintana M. 2005).

I valori di ciascuna variabile presentati in tabella 9 nel gruppo di cani sani possono essere considerati dei riferimenti di normalità per la funzionalità dell'atrio sinistro. La maggior parte delle variabili mostra delle basse deviazioni standard, indicando una buona riproducibilità della metodica tra cane e cane. Le variabili TDI non presentano inoltre considerevoli differenze tra le 4 pareti, segnalando un'omogeneità nella funzione meccanica ed elettro-meccanica all'interno dell'atrio del cane, o quantomeno una variabilità interparietale troppo minima per essere individuata a livello ecocardiografico. Soltanto tre variabili (SR e V della diastole precoce, e V della diastole tardiva) hanno presentato una differenza statisticamente significativa tra le pareti. In particolare in Fig. 4.10 si osservano dei valori minori per ciascuna variabile a livello di parete laterale, con valori progressivamente in aumento nelle altre pareti che risultano più alti a livello di setto interatriale. Questo rilievo è in disaccordo con quanto osservato in uno studio condotto sull'uomo dove le variabili TDI del setto interatriale presentavano tendenzialmente valori più bassi (Shin MS., 2009).

Nelle variabili ecocardiografiche standard sono state riscontrate delle differenze statisticamente significative tra i vari gruppi di studio. Chiaramente la variabile di dilatazione atriale sinistra (LA/Ao) è risultata maggiore nei cani del gruppo 3 rispetto agli animali sani o malati ma senza sovraccarico volumetrico atriale. Allo stesso modo la differenza statistica dei valori dell'onda E del flusso trans mitralico, fra il gruppo dei cani sani (1) ed i gruppi di cani con MVD (2 e 3), e fra il gruppo 2 ed il 3, rispecchia il diverso volume di pre-carico in base alla quantità di rigurgito. Pertanto i cani sani presentano un pre-carico minore dei cani con dilatazione atriale, e rispetto ai cani privi ancora di dilatazione ma con un volume tele-sistolico atriale incrementato per la presenza di un'insufficienza mitralica più o meno significativa (Boon J.A., 2011). L'onda A presenta un'importante differenza statistica fra il gruppo 1 ed i gruppi 2 e 3, mentre non esiste

differenza statistica fra il gruppo 2 ed il 3. Probabilmente questo si verifica in quanto nel gruppo 2, non essendoci ancora dilatazione atriale, le fibre miocardiche atriali rispondono all'aumento del pre-carico con una maggiore forza contrattile, secondo la legge di Frank-Starling, inducendo un incremento dei valori dell'onda A (rispetto al gruppo 1) ; mentre nel gruppo 3 il disallineamento delle fibre indotto dall'aumento delle dimensioni atriali comporta una disfunzione sistolica del miocardio atriale stesso. Infine essendo direttamente correlato all'onda E, anche i valori del rapporto E/A sono risultati maggiori nel gruppo 3 rispetto ai gruppi 1 e 2.

Su 48 variabili analizzate considerando tutte le pareti abbiamo individuato una differenza statistica solamente per 4 variabili (SR diastolico precoce del setto interatriale; SR sistolico della parete laterale; V diastolica tardiva della parete posteriore; e TTPvel della parete posteriore). Abbiamo però individuato, pur in assenza di differenza statistica, un trend nei valori di SR diastolico precoce nelle diverse pareti, con valori maggiori nel gruppo dei cani sani e progressivamente minori nei cani con MVD senza e con dilatazione atriale sinistra. Probabilmente il limitato numero di soggetti per ciascun gruppo ha compromesso il potere statistico della nostra analisi, limitando la significatività dei risultati. In uno studio condotto sulle persone affette da rigurgito mitralico è stata riscontrata una differenza statistica nei valori di velocità delle diverse pareti atriali durante la sistole e la diastole tardiva ventricolare, con valori minori nei pazienti malati rispetto ai sani. La tendenza alla riduzione dei valori di SR diastolico precoce registrata nel nostro studio può essere riconducibile ad una progressiva disfunzione atriale in corso di MVD e di dilatazione atriale sinistra, come espressione di un rimodellamento del miocardio atriale che diventa nel tempo fibrotico e conseguentemente più rigido (*Shin MS, et al 2009*).

L'analisi di correlazione tra i parametri ecocardiografici standard e le variabili TDI ha mostrato alcuni dati significativi. Nel dettaglio il grado di dilatazione atriale sinistra espressa come LA/Ao correla positivamente con i valori di V diastolica precoce e tardiva della parete laterale, indicando

come l'aumentato pre-carico atriale induca una maggiore velocità di movimento della parete dovuta probabilmente ad un più rapido svuotamento della camera. Le V sistoliche della parete laterale ed anteriore si correlano, invece, negativamente con LA/Ao suggerendo che la deformazione e lo spostamento dell'atrio a mitrale chiusa diminuisce con il progredire della dilatazione della camera. Risultati paralleli si sono ottenuti nella correlazione con la velocità dell'onda E trans mitralica, quale espressione, anche'essa, del grado di sovraccarico volumetrico atriale. Pertanto abbiamo individuato, al pari del rapporto LA/Ao, una correlazione positiva con la V diastolica tardiva e positiva con la V sistolica dell'atrio. Lo studio di correlazione con l'onda A ha, invece, mostrato una linearità diretta con la V diastolica precoce della parete laterale e con lo SR sistolico della parete posteriore, mentre la correlazione risulta invertita per quanto riguarda la V diastolica tardiva. Infine, abbiamo osservato che con l'aumento del pre-carico atriale e le pressioni di riempimento ventricolari, espresse come rapporto E/A, si ha anche un aumento della V diastolica tardiva delle pareti laterale e posteriore, ed un incremento dello SR diastolico tardivo della parete anteriore. Mentre, contemporaneamente diminuisce la deformazione (ϵ) diastolico precoce della parete anteriore.

La ripetibilità del metodo nel corso di questo studio è risultata essere nella maggior parte delle variabili bassa/molto bassa per quanto riguarda la V_{IG} , e moderata/bassa per la V_{II} , in accordo con altri lavori condotti sui cavalli (Schwarzwald C.C., 2006) e sulle persone (Mi-Seug S., 2009). I valori di V_{IG} e di V_{II} maggiori (moderata/alta) sono stati ottenuti per lo ϵ diastolico precoce pressoché in tutte le pareti. Questo dato può essere spiegato considerando che la deformazione dell'atrio durante la diastole precoce è fortemente legata alla durata della diastole stessa. Pertanto variazioni significative della frequenza cardiaca in animali tachicardici, o la stessa aritmia sinusale respiratoria fisiologica nel cane, possono fortemente influenzare il grado di deformazione delle pareti dell'atrio sinistro e pertanto le nostre misurazioni. Inoltre il setto interatriale è risultato essere la parete con maggiore variabilità nelle misure TDI. Sia nel cane che

nell'uomo il setto rappresenta spesso la parete che meno si presta ad un corretto allineamento con il fascio ultrasonografico in scansione apicale. Inoltre la presenza della fossa ovale nella parte media del setto comporta un netto assottigliamento della parete in tale zona, rendendo ulteriormente difficoltosa l'analisi del suo movimento.

Il presente studio mostra sicuramente una serie di limitazioni. In primo luogo il numero relativamente basso di animali analizzati che può avere ridotto il potere statistico della nostra analisi. Una maggior numerosità di soggetti avrebbe forse minimizzato le deviazioni standard e migliorato perciò il differenziamento tra i gruppi. Inoltre, un numero di soggetti maggiore avrebbe consentito anche di suddividere gli animali malati in ulteriori sottopopolazioni con differenti gradi di dilatazione atriale sinistra (lieve, moderata e grave) consentendoci di individuare eventuali differenze nelle variabili TDI in gruppi di animali più omogeneamente distribuiti. E' stato dimostrato nell'uomo che la stessa età e l'invecchiamento possono influire sulle variabili di deformazione dell'atrio sinistro, inducendo una progressiva riduzione dei valori sistolici e diastolici con l'avanzare delle decadi di vita (*Boyd AC, 2011*). Questo dato non è stato dimostrato nel cane, ma non si può escludere che possa avere giocato un ruolo nel nostro studio, dove l'età media dei soggetti nel gruppo di controllo era minore rispetto a quella degli animali malati.

La metodica con cui abbiamo classificato la dimensione dell'atrio sinistro è attualmente la più utilizzata in ambito clinico nel cane. Questa però consiste in una tecnica di misurazione di tipo monodimensionale ricavata da un'immagine bidimensionale. Essendo però l'atrio una struttura tridimensionale è chiaro come il grado di dilatazione possa essere erroneamente considerato se viene preso in considerazione soltanto un suo diametro e come perciò cani con volume atriale effettivamente incrementato possano essere stati scorrettamente inseriti nel gruppo di animali con normali dimensioni atriali, e viceversa. La misura ed il calcolo del volume atriale tramite scansioni biplanari perpendicolari o l'utilizzo dell'ecocardiografia tridimensionale potrebbe sicuramente risolvere questo

limite (Tidholm A., 2011; Abhayaratna W.P., 2006). Infine, il TDI, poiché sfrutta l'effetto Doppler per ricavare gli indici di deformazione miocardica, presenta intrinsecamente un fattore di angolo dipendenza. Pertanto la mancanza di perfetto allineamento tra il fascio ultrasonografico e l'asse maggiore della parete può indurre ad una sottostima della misura reale. Allo stesso modo l'interferenza del movimento delle strutture circostanti e del polmonare possono compromettere o alterare una corretta valutazione del movimento parietale atriale. Per ovviare a tali problemi, in medicina umana sta venendo sempre maggiormente utilizzata un'innovativa tecnica di analisi della deformazione miocardica segmentale chiamata *Speckle Tracking*, che, non sfruttando l'effetto Doppler, ma basandosi su immagini ecocardiografiche bidimensionali, risolve in parte i limiti del TDI (Cameli M et al, 2012).

Conclusioni

In conclusione nel presente lavoro di tesi abbiamo dimostrato che la valutazione ecocardiografica delle proprietà di deformazione dell'atrio sinistro basata sul TDI è una tecnica attuabile e riproducibile nel cane. Abbiamo perciò fornito dei valori di normalità per questa specie e confrontato questi dati con quelli ricavati da una popolazione di cani portatori di MVD. Le differenze tra le varie classi di malattia sono risultate limitate, ma abbiamo individuato delle correlazioni tra i parametri TDI ed alcune variabili di funzionalità atriale. Questa applicazione innovativa del TDI, mai impiegato precedentemente nello studio dell'atrio sinistro del cane, può perciò rappresentare un fondamentale ausilio nell'analisi della disfunzione dell'atrio e nella comprensione della sua complessa fisiologia.

BIBLIOGRAFIA

Abbott J.A.

“Acquired Valvular Disease”. In Tilley L.P., Smith F.W.K., Oyama M.A., Sleeper M.M.: *Manual of Canine and Feline Cardiology*, 4th edition, ed. Elsevier, 110-131, (2008)

Abhayaratna WP, Seward JB, Appleton Co, et al.

“Left atrial size: physiologic determinants and clinical application”
Journal of American College of Cardiology (2006),47:2357:2363

Albertini M

“Fisiologia cardiovascolare – Cuore”

In:Avallone, L., G. Caola, M.G. Clement, A. Ferlazzo, S. Naitana, M. Panzera, M. Albertini, E. Fazio, G. Piccione; “Fisiologia Veterinaria”, *Le Point VétérinaireItalie*; (2010)

Altekin RE, Yanikoglu A, Karakas MS, Ozel D, Kucuk M, Yilmaz H, Demir I

“Assessment of left atrial dysfunction in obstructive sleep apnea patients with the two dimensional speckle-trackingechocardiography”
Clinal Reserch of Cardiology (2012) 6

Appleton CP, Galloway JM, Gonzalez MS, Gaballa M, Basnight MA

“Estimation of left ventricular filling pressures using two-dimensional and Doppler echocardiography in adult patients with cardiac disease. Additional value of analyzing left atrial size, left atrial ejection fraction and the difference in duration of pulmonary venous and mitral flow velocity at atrial contraction” *Journal of American College of Cardiology* (1993),7:1972-82

Anderson R.H., Smerup M., Sanchez-Quintana D. Loukas M., Lunkenheimer P.P. “The Three-Dimensional Arrangement of the Myocytes in the Ventricular Walls”. *Clinical Anatomy*, 22, 64–76, 2009

Artis NJ, Oxborough DL, Williams G, Pepper CB, Tan LB

“Two dimensional strain imaging: a new echocardiography advance with research and clinical application”

International Journal of Cardiology 123 (2007); 240-248

Atkins C., Bonagura J., Ettinger S., Fox P., Gordon S., Haggstrom J., Hamlin R., Keene B., Luis-Fuentes V., Stepien R.

“Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Canine Chronic Valvular Heart Disease”. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 1142–1150, (2009)

Barone R.

“II – Caratteri generali e conformazione esterna; III – Conformazione interna”. In: Barone R.: *Anatomia comparata dei mammiferi domestici. Vol. 5, Angiologia, Parte prima cuore e arterie*. Edizione a cura di Bortolami R., Edagricole, Bologna, cap.1, 13-32, 2003

Baron Toaldo M., Guglielmini C., Diana A., Giunti M., Dondi F., Cipone M.

“Reversible pulmonary hypertension in a cat”. *Journal of Small Animal Practice*, 52(5), 271-277, 2011

Bonagura JD, Fuentes VL

“Ecocardiografia”

In: Ettinger S.J., Feldman E.C., “Trattato di clinica medica veterinaria. Malattie del cane e del gatto”, 2°ed. - Delfino Antonio Editore (2002); 834-871

Boon J.A.

“Echocardiographic reference values”

In: Boon J.A., “Manual of Veterinary Echocardiography”. Lippincott William & Wilkins (1998);453-473

Boon J.A.

“Evaluation of Size, Function, and Hemodynamics” in Boon J.A.: *Veterinary Echocardiography*. Wiley-Blackwell, cap. 4, 153-246, 2011

Boon J.A.

“Normal Doppler flow profile and technique “

In: Boon J. A., *Veterinary Echocardiography*, 2° ed.- Wiley-Blackwell, (2011); 129-145

Boon JA

“The physic of ultrasound”

In: Boon J. A., “*Veterinary Echocardiography*”, 2° ed.- Wiley-Blackwell, (2011); 3- 35

Borgarelli M., Crosara S. Lamb K., Savarino P., La Rosa G., Tarducci A., Häggström J.

“Survival characteristics and prognostic variables of dogs with preclinical chronic degenerative mitral valve disease attributable to myxomatous degeneration”. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(1), 69–75, 2012

Borgarelli M., Häggström J.

“Canine Degenerative Myxomatous Mitral Valve Disease: Natural History, Clinical Presentation and Therapy”. *Veterinary Clinics of North America*, 40, 651–663, 2010

Borgarelli M., Savarino P., Crosara S., Santilli R.A., Chiavegato D., Poggi M., Bellino C., La Rosa G., Zanatta R., Häggström J., Tarducci A.

“Survival Characteristics and Prognostic Variables of Dogs with Mitral Regurgitation Attributable to Myxomatous Valve Disease”. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 120–128, 2008

Borgarelli M., Tursi M., La Rosa G., Savarino P., Galloni, M.

“Anatomic, histologic, and two-dimensional–echocardiographic evaluation of mitral valve anatomy in dogs”. *American Journal of Veterinary Research*, 72, 1186–1192, 2011

Borgarelli M., Zini E., D’Agnolo G., Tarducci A., Santilli R.A.,

Chiavegato D., Tursi M., Prunotto M., Häggström J.

“Comparison of primary mitral valve disease in German Shepherd dogs and in small breeds”. *Journal of Veterinary Cardiology*, 6, 27–34, 2004

Bortolami R., Callegari E., Beghelli V

“Apparato circolatorio”

In: Bortolami R., Callegari E., Beghelli V., “Anatomia e fisiologia degli animali domestici”, Calderini Edagricole (2000): 415-428

Boyd CA, Richards DAB, Marwick T, Thomas L

“Atrial strain rate is a sensitive measure of alternations in atrial phasic function in healthy ageing”
Heart (2011), 97:1513-1519

Buchanan JW

“Chronic valvular disease (endocardiosis) in dogs”
Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine
(1977),21:75-106

Cameli M, Lisi M, Righini FM, Mondillo S

“Novel echocardiographic techniques to assess left atrial size, anatomy and function”
Cardiovasc Ultrasound (2012)1:4

Caso P, Di Salvo G, Pacileo G, Severino S, Sarubbi B, Calabrò R

“Strain e Strain Rate”
In: Calabrò R., Caso P., Pacileo C., Severino S.; “Nuove tecniche ecocardiografiche: dalla metodologia alla clinica”, Piccin; (2005); 83-92

Chetboul V.

“Tissue Doppler Imaging: a promising technique for quantifying regional myocardial function”. *Journal of Veterinary Cardiology*, 4(2), 7–12, 2002

Chetboul V.

“Advanced Techniques in Echocardiography in Small Animals”.
Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 40, 529–543, 2010

Chetboul V., Chetboul V, Athanassiadis N., Carlos C., Nicolle A., Zilberstein L., Pouchelon J.L., Lefebvre H.P., Concordet D.

“Assessment of repeatability, reproducibility, and effect of anesthesia on determination of radial and longitudinal left ventricular velocities via tissue Doppler imaging in dogs”. *American Journal of Veterinary Research*, 65(7), 909-915, 2004

Chetboul V., Sampedrano C.C., Gouni V., Concordet D., Lamour T., Ginesta J., Nicolle A.P., Pouchelon J.L., Lefebvre H.P.

“Quantitative Assessment of Regional Right Ventricular Myocardial Velocities in Awake Dogs by Doppler Tissue Imaging: Repeatability, Reproducibility, Effect of Body Weight and Breed, and Comparison with Left Ventricular Myocardial Velocities”. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19, 837–844, 2005

Chetboul V, Sampedrano CC, Gouni V, Nicolle AP, Pouchelon JL, Tissier R.

“Ultrasonographic assessment of regional radial and longitudinal systolic function in healthy awake dogs” *Journal of Veterinary Internal Medicine* (2006), 4:885-93.

Chetboul V, Sampedrano CC, Concordet D, Tissier R, Lamour T, Ginesta J, Gouni V, Nicolle AP, Pouchelon JL, Lefebvre HP

“Use of quantitative two-dimensional color tissue Doppler imaging for assessment of left ventricular radial and longitudinal myocardial velocities in dogs” *American Journal of veterinary research* (2005),6:953-961

Chetboul V, Gouni V, Sampedrano C, Tissier R, Serres F, Pouchelon J-L

“Assessment of Regional Systolic and Diastolic Myocardial Function using Tissue Doppler and Strain Imaging in Dogs with Dilated Cardiomyopathy”
Journal of veterinary internal medicine (2007),21:719-730

Cetboul V, Serres F, Gouni V, Tessier R, Pouchelon JL

“Radial strain and strain rate by two-dimensional speckle tracking echocardiography and the tissue velocity based technique in the dog”
Journal of Veterinary Cardiology (2007), 9:69-81

Cornell CC, Kittleson MD, Della Torre P, Haggstromm J, Lombard CW, Pedersen HD, Vollmar A, Wey A

“Allometric scaling of M-mode cardiac measurement in normal adult dogs”
Journal of Veterinary Internal medicine (2004), 18:311-320

Chiavegato D., Borgarelli M., D’Agnolo G., Santilli R.A.

“Pulmonary hypertension in dogs with mitral regurgitation attributable to Myxomatous Valve Disease”. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 50(3), 253–258, 2009

Culshaw G.J., French A.T., Han R.I., Black A., Pearson G.T., corcoran B.M.

“Evaluation of innervation of the mitral valves and the effects of myxomatous degeneration in dogs”. *American Journal of Veterinary Research*, 71, 194-202,2010

D’hooge J

“Principles and different techniques for speckle tracking”

In : Marwick T. H., Yu C. M., Sun J.P.; “Myocardial Imaging - tissue doppler and speckle tracking”, Blackwell Futura; (2007); 17-25

Damiano R.J., La Follette P., James J. R., Cox L., Lowe J.E., Santamore W.P.

“Significant left ventricular contribution to right ventricular systolic function”. *American Journal of Physiology*, 261, 1514-1524, 1991

Di Salvo G, Caso P, Lo Piccolo R, Fusco A, Martiniello AR, Russo MG, D'Onofrio A, Severino S, Calabró P, Pacileo G, Mininni N, Calabró R

“Atrial myocardial deformation properties predict maintenance of sinus rhythm after external cardioversion of recent-onset loneatrial fibrillation: a color Doppler myocardial imaging and transthoracic and transesophageal echocardiographic study”

Circulation (2005), 3:387-395

Di Salvo G, Drago M, Pacileo G, Rea A, Carrozza M, Santoro G, Bigazzi MC, Caso P, Russo MG, Carminati M, Calabro' R

“Atrial function after surgical and percutaneous closure of atrial septal defect: a strain rate imaging study” *Journal of American Society of Echocardiography* (2005), 9:930-933

Dohi K, Suffoletto MS, Schwartzman D, Ganz L, Pinsky MR, Gorcsan J 3rd

“Utility of echocardiographic radial strain imaging to quantify left ventricular dyssynchrony and predict acute response to cardiac resynchronization therapy”

American Journal of Cardiology (2005) 1:112-6.

Dokainish H., Sengupta R., Patel R., Lakkis N.

“Usefulness of Right Ventricular Tissue Doppler Imaging to Predict Outcome in Left Ventricular Heart Failure Independent of Left Ventricular Diastolic Function”. *American Journal of Cardiology*, 99, 961–965, 2007

Estrada A, Chetboul V

“Tissue Doppler evaluation of ventricular synchrony”

Journal of Veterinary Cardiology (2006), 8:129-137

Ettinger S J

“Pathophysiology of heart failure”

In: Ettinger S. J. E.C. Feldman; “Textbook of Veterinary Internal Medicine”, 6°ed. - Elsevier - Health Sciences Division; (2004)

Fleming E., Ettinger S.J.

“Pulmonary hypertension”. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 28, 720-730, 2006

Fox PR, Moise SN

“Echocardiography and Doppler imaging”

In: Fox P.R., Sisson D., Moise S.N.; Textbook of canine and feline Cardiology , 2° ed.- W.B. Saunders Company, (1999)

Fuster V., Alexander R.W., O’Rourke R.A.

“Anatomia funzionale del cuore; fisiologia normale del sistema cardiovascolare”. In: Fuster V.: *Hurst. Il cuore. Vol. 1, Fisiologia, semeiotica, insufficienza cardiaca, disordini del ritmo*. Edizione a cura di Distante A., McGraw – Hill, Milano, cap. 3 e 4, 63-128, 2004

Ghio S., Recusani F., Klersy C., Sebastiani R., M.L. Laudisa, Campana C., Gavazzi A., Tavazzi L.

“Prognostic Usefulness of the Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion in Patients With Congestive Heart Failure Secondary to Idiopathic or Ischemic Dilated Cardiomyopathy”. *American Journal of Cardiology*, 85, 837–842, 2000

Ghoshan NG

“Heart and arteries of carnivores”

In: Getty R.; “The anatomy of the domestic animals”, 5° ed. - W.B. Saunders Company; (1982)

Goncalves AC, Orton EC, Boon JA, Salman MD

“Linear, logarithmic, and polynomial models of m-mode echocardiographic measurements in dogs”

American Journal Veterinary Research (2002);63:994-999

Griffiths LG, Fransioli JR, Chigherwe M

“Echocardiographic assessment of interventricular and intraventricular mechanical synchrony in normal dog”

“ Journal of veterinary Cardiology (2011), 13:115-126

Guglielmini C., Civitella C., Diana A., Di Tommaso M., Cipone M., Luciani A.

“Serum Cardiac Troponin I Concentration in Dogs with Precapillary and Postcapillary Pulmonary Hypertension”. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 145–152, 2010

Gurlertop Y, Yilmaz M, Acikel M, Bozkurt E, Erol MK, Senocak H, Alp N

“Tissue Doppler properties of the left atrial appendage in patients with mitral valve disease”

Echocardiography (2004), 4:319-324

Haddad F., Hunt S.A., Rosenthal D.N., Murphy D.J.

“Right ventricular function in cardiovascular disease, part I - anatomy, physiology, aging, and functional assessment of the right ventricle”.

Circulation, 117, 1436–1448, 2008

Haddad F., Hunt S.A., Rosenthal D.N., Murphy D.J.

“Right ventricular function in cardiovascular disease, part II – pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure”, *Circulation*, 117, 1717-1731, 2008

Hansson K, Haggstrom J, Kwart C, Lord P

“Left atrial to aortic root indices using two-dimensional and M-mode echocardiography in cavalier King Charles spaniels with and without left atrial enlargement”

Vet Radiol Ultrasound. (2002),43(6):568-75

Heindal A

“Technical principles of tissue velocity and strain imaging methods”

In : Marwick T. H., Yu C. M., Sun J.P.; “Myocardial Imaging - tissue doppler and speckle tracking”, Blackwell Futura; 2007; 3-16

Ho S.Y., Nihoyannopoulos P.

“Anatomy, echocardiography, and normal right ventricular Dimensions”
Heart, 92 (Suppl. I), i2–i13, 2006

Hoffman D., Sisto D., Frater R.W., Nikolic S.D.

“Left-to-right ventricular interaction with a noncontracting right ventricle”.
Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 107, 1496 –1502, 1994

Isaaz K, Thompson A, Ethevenot G, et al

“Doppler echocardiography measurement of flow velocity motion of the left ventricular posterior wall ” *American Journal of Cardiology*, 1989; 64:66-75

Jurcut R., Giusca S., La Gerche A., Vasile S., Ginhina C., Voigt J.

“The echocardiographic assessment of the right ventricle: what to do in 2010?”. *European Journal of Echocardiography*, 11, 81–96, 2010

Khankirawatana B, Khankirawatana S, Peterson B, Mahrous H, Porter TR

“Peak atrial systolic mitral annular velocity by Doppler tissue reliably predicts left atrial systolic function”

Journal of American Society of Echocardiography (2004),4:353-60.

Ke W, Siew YH, Gibson DG, Anderson RH

“Architecture of atrial musculature in humans”

Br Heart Journal 1995;73:559-565.

Kittleson M D, Kienle R D

“Myxomatous Atrioventricular Valvular Degeneration”

In: Kittleson M D, Kienle R D, “Small animal cardiovascular medicine”, Mosby, (1998): 297-317

Kittleson MD, Kienle RD

“Pathophysiology of heart failure”

In: “Small animal cardiovascular medicine”, Mosby, (1998):136- 140

Kittleson M.D.

“Pulmonary arterial and systemic arterial hypertension” in Kittleson M.D., Kienle R.D.: *Small Animal Cardiovascular Medicine*. Mosby, cap. 26, 433-439, 1998

Kogure K

“Pathology of Chronic MItral Valve Disease in the Dog”

Japan Journal Veterinary Science (1980)42, 323-335,

Komamura K., Shannon R.P., Ihara T., Shen Y., Mirsky I., Bishop S.P., Vatner S.

“Exhaustion of Frank-Starling mechanism in conscious dogs with heart failure”. *American Journal of Physiology*, 265, 1119-1131, 1993

La. J.H.C., Ranganathan N., Wigle E.D., Silver M.D.

“Morphology of the Human Mitral Valve: I. Chordae Tendineae: A new Classification”. *Circulation*, 41, 449-458, 1979

Lang J

“Doppler ultrasound”

In: Mannion P., “Diagnostic ultrasound small animal practice”, 1^o ed.- Blacwell Science Ltd, (2006)216-226

Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman ML, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MSJ, Stewart WJ

“Recommendation for chamber quantification”

European Journal Echocardiography (2006)7, 79-108

Liang HY, Bax JJ, Abraham TP

“Strain and strain rate imaging in ischemia”

In : Marwick T. H., Yu C. M., Sun J.P.; “Myocardial Imaging - tissue doppler and speckle tracking”, Blackwell Futura; (2007); 162-171

LeGrice I.J., Smaill B.H., Chai L.Z., Edgar S.G., Gavin J.B., Hunter P.J.

“Laminar structure of the heart: Ventricular myocyte arrangement and connective tissue architecture in the dog”. *American Journal of Physiology*, 269 (2), 571–582, 1995

Leyton R.A., Spotniz H.M., Sonnenblick E.H.

“Cardiac ultrastructure and function: sarcomeres in the right ventricle”
American Journal of Physiology, 221 (3), 902-910, 1971

Lloyd Dini F., Conti U., Fontanive P., Andreini D., Banti S., Braccini L., De Tommasi S.M.

“Right ventricular dysfunction is a major predictor of outcome in patients with moderate to severe mitral regurgitation and left ventricular dysfunction”. *American Heart Journal*, 154, 172-179, 2007

Lombard CW

“Normal values of the canine M-mode echocardiogram”
American Journal of Veterinary Research (1984); 45(10):2015-8

Marcato P.S.

“Endocardiosi (Degenerazione mucoide)”. In Marcato P.S.: *Patologia sistematica veterinaria*. Edagricole, Bologna, cap. 3, 370-371, 2008

Meluzin J., Spiranová L., Bakala J., Toman J., Krejci J., Hude P., Kàra T., Soucek M.

“Pulsed Doppler tissue imaging of the velocity of tricuspid anular systolic motion”. *European Heart Journal*, 22, 340-348, 2001

Meluzin J., MD, Spinarová L., Hude P., Krejčí J., Kincl V., Panovsky R., Dusek L.

“Prognostic Importance of Various Echocardiographic Right Ventricular Functional Parameters in Patients with Symptomatic Heart Failure”. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 18, 435-444, 2005

Meier G.D., Bove A.A., Santamore W.P., Lynch P.R.

“Contractile function in canine right ventricle” *American Journal of Physiology*, 239, H794-H804, 1980

Mi-Seug, Morrison SA, Moise NS, Scarlett J

“Effect of breed and body weight on echocardiography values in four breed of dogs of differing somatotypes”
Journal Veterinary Internal Medicine (1992);6:220-224

Nagueh S.F., Kopelen H.A., Zoghbi W.A

“Relation of Mean Right Atrial Pressure to Echocardiographic and Doppler Parameters of Right Atrial and Right Ventricular Function”. *Circulation*, 93, 1160-1169, 1996

Nagueh S.F., Zoghbi W.A.

“Evaluation of Right Ventricular Diastolic Function”. In Klein A.L., Garcia J.G.: *Diastology: Clinical Approach to Diastolic Heart Failure*, ed. Elsevier, 171-180, 2008

Olsen L.H., Häggström J., Petersen H.D.

“Acquired valvular disease”. In Ettinger S.J., Feldman E.C.: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 7th edition ed. Elsevier, 1299-1314, 2010

“Evaluation of four 2-dimensional echocardiographic methods of assessing left atrial size in dogs”. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(4), 429-435, 2000

Rouleau J.L., Paradis P., Shenasa H., Juneau C.

“Faster time to peak tension and velocity of shortening in right versus left ventricular trabeculae and papillary muscles of dogs”. *Circulation Research*, 59, 556-561, 1986

Rudski L.G., Lai W.W., Afilalo J., Hua L., Handschumacher M.D., Chandrasekaran K., Solomon S.D., Louie E.K., Schiller N.B.

“Guidelines for the Echocardiographic Assessment of the Right Heart in Adults: A Report from the American Society of Echocardiography”

Journal of the American Society of Echocardiography, 23, 685-713, 2010

Sampedrano C, Chetboul V, Gouni V, Nicolle AP, Pouchelon JL, Tissier R.

Systolic and diastolic myocardial dysfunction in cats with hypertrophic cardiomyopathy or systemic hypertension.

Journal of Veterinary Internal Medicine (2006)20:1106-1115

Santamore W.P., Dell’Italia L.J.

“Ventricular interdependence: significant left ventricular contributions to right ventricular systolic function”. *Progresses in Cardiovascular Diseases*, 40, 289 –308, 1998

Santilli R A, Perego M

“Anatomia del sistema di conduzione”

In: “Elettrocardiografia del cane e del gatto”, Elsevier: 2009 : 1-14

Santilli R A, Perego M

“Genesi e interpretazione delle onde elettrocardiografiche”

In: “Elettrocardiografia del cane e del gatto”, Elsevier: 2009 : 29-55.

Schneider C, Malisius R, Krause K, Lampe F, Bahlmann E, Boczor S, Antz M, Ernst S, Kuck KH

“Strain rate imaging for functional quantification of the left atrium: atrial deformation predicts the maintenance of sinus rhythm after catheter ablation of atrial fibrillation”

European Heart Journal (2008),29:1397-1409

Schober K.E., Baade H.

“Doppler echocardiographic prediction of pulmonary hypertension in

West Highland White Terriers with chronic pulmonary disease”. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(4), 912-920, 2006

Schwarzwald CC, Schober KE, Bonagura JD

“Echocardiographic evidence of left atrial mechanical dysfunction after conversion of atrial fibrillation to sinus rhythm in 5 horses”

Journal of Veterinary Internal Medicine (2007),1:820-827

Schwarzwald CC, Schober KE, Bonagura JD

“Methods and reliability of echocardiographic assessment of left atrial size and mechanical function in horses”

American Journal of Veterinary Medicine (2007),7:735-747

Schwarzwald CC, Schober KE, Berli AS, Bonagura JD

Left ventricular radial and circumferential wall motion analysis in horses using strain, strain rate, and displacement by 2D speckle tracking.

Journal Veterinary Internal Medicine (2009)4:890-900

Serres F.J., Chetboul V., Gouni V., Tissier R., Sampedrano C.C., Pouchelon J.L.

“Diagnostic Value of Echo-Doppler and Tissue Doppler Imaging in Dogs with Pulmonary Arterial Hypertension”. *Journal of Veterinary Internal Medicine* , 21, 1280–1289, 2007

Serres F.J., Chetboul V., Tissier R., Sampedrano C.C., Gouni V., Nicolle A.P., Pouchelon J.L..

“Doppler echocardiography-derived evidence of pulmonary arterial hypertension in dogs with degenerative mitral valve disease: 86 cases (2001-2005)”. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 229(11), 1772-1778, 2006

Shaver J.A., Nadolny R.A., O’Toole J.D. , Thompson M.E., Reddy P.S., Leon D.F., Curtiss E.I.

“Sound pressure correlates of the second heart sound. An intracardiac sound study”. *Circulation*, 49, 316–325, 1974

Sheehan F., Redington A.

“The right ventricle: anatomy, physiology and clinical imaging”. *Hearth*, 94, 1510-1515, 2008

Simak J, Keller L, Killich M, Hartmann K, Wess G

“Color-coded longitudinal interventricular septal tissue velocity imaging, strain and strain rate in healthy Doberman Pinschers”
Journal of Veterinary Cardiology (2011), 1:1-11

Sirbu C, Herbots L, D'hooge J, Claus P, Marciniak A, Langeland T, Bijmens B, Rademakers FE, Sutherland GR

“Feasibility of strain and strain rate imaging for the assessment of regional left atrial deformation: a study in normal subjects”

European Journal of Echocardiology (2006), 3:199-208

Smiseth OA, Edvardsen T

“Tissue Doppler and Speckle Tracking Echocardiography” In: Otto C.M.; “The practice of clinical echocardiography”

Saunders Elsevier 3^o ed.- 2007; 115-133

Stefanidis C, Dernellis J, Lambrou S, Toutouzas P

“Left atrial energy in normal subjects, in patient with symptomatic mitral stenosis, and patients with advanced heart failure”

American Journal of Cardiology (1998),82:1220-1223

Stepien R.L.

“Pulmonary arterial hypertension secondary to chronic left-sided cardiac dysfunction in dogs.” *Journal of Small Animal Practice*,50, 34-43, 2009

Swenson L, Haggstrom J, Kvart C, Juneja RK

“Relationship between parental cardiac status in Cavalier King Charles spaniels and prevalence and severity of chronic valvular disease in offspring”

J Am Vet Med Assoc. 1996 Jun 15;208(12):2009-12.

Taylor R.R., Covell J.W., Sonnenblick E.H., Ross J.J.

“Dependence of ventricular distensibility on filling of the opposite ventricle”. *American Journal of Physiology*, 213, 711–718, 1967

Tayyareci Y, Yildirimtürk O, Aytekin V, Memic K, Behramoglu F, Demiroglu IC, Aytekin S

“Preoperative left atrial mechanical dysfunction predicts postoperative atrial fibrillation after coronary artery bypass graft operation – a velocity vector imaging-based study”
Circulation Journal (2010), 10:2109-20117

Tidholm A., Ljungvall I., Hoglund K., Westling A.B., Häggström J.

“Tissue Doppler and Strain Imaging in Dogs with Myxomatous Mitral Valve Disease in Different Stages of Congestive Heart Failure”. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 1197-1207, 2009

Thomas L, Levett K, Boyd A, Leung DYC, Shiller NB, Ross DL

“Changes in regional left atrial function with aging: evaluation by Doppler Tissue Imaging”
European Journal Echocardiography (2003) 4, 92-100

Thomas WP, Gaber EC, Jacobs JG, Kaplan MP, Lombard CW, Moise SN, Oses LB

“Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat” *Journal Internal Medicine* 1993;7:2447-252.

Tidholm A., Ljungvall I., Hoglund K., Westling A.B., Hagstrom J.

“Tissue Doppler and strain imaging in dogs with myxomatous mitral valve disease in different stages of congestive heart failure”
Journal of veterinary Internal Medicine (2009),23:1197:1207

Tilley LP.

“Analysis of canine p-qrs-t deflections”
In: Tilley LP, *Essentials of canine and feline electrocardiography*. Lea & Febiger; (1992) 59-99.

Urabe Y., Mann D.L., Kent R.L., Nakano K., Tomanek R.J, Carabello B.A., Cooper G.,

“Cellular and ventricular contractile dysfunction in experimental canine mitral regurgitation”. *Circulation Research*, 70, 131-147, 1992

Vitarelli A., Terzano C.

“Do we have two hearts? New insights in right ventricular function supported by myocardial imaging echocardiography”. *Heart Failure Reviews*, 15, 39–61, 2010

Vizzardi E, D’Aloia A, Rocco E, Lupi L, Rovetta R, Quinzani F, Bontempi L, Curnis A

“How should we measure left atrium size and function?”
Journal of Clinical Ultrasound (2012);

Wang K, Ho SY, Gibson DG, Anderson RH

“Architecture of atrial musculature in humans”
British Heart Journal (1995),6:559-65.

Ware AW

“Acquired Valve Disease”

In: Ware. A. W.; “Cardiovascular disease in small animal medicine”, 3° ed.
- Manson Publishing Ltd.; 2011

Ware AW

“Management of heart failure”

In: Ware. A. W.; “Cardiovascular disease in small animal medicine”, 3° ed.
- Manson Publishing Ltd.; 2011

Ware AW

“Overview of Echocardiography”

In: Ware. A. W.; “Cardiovascular disease in small animal medicine”, 3° ed.
- Manson Publishing Ltd.; 2011

Yu C.M., Sanderson J.E., Chan S., Yeung L., Hung Y.T., Woo K.S.

“Right ventricular Diastolic Dysfunction in Heart Failure”. *Circulation*, 93,
1509-1514, 1996

Zhang Q, Yu CM

“Atrial function”

In : Marwick T. H., Yu C. M., Sun J.P.; “Myocardial Imaging - tissue
doppler and speckle tracking”, Blackwell Futura; 2007: 255-264

**Zhang Q, Kum LC, Lee PW, Lam YY, Wu EB, Lin H, Yip GW, Wu
L, Yu CM**

“Effect of age and heart rate on atrial mechanical function assessed by
Doppler tissue imaging in healthy individuals”

Journal of American Society of Echocardiography (2007), 114:202-209

**Zoghbi WA, Enriquez-Sarano M, Foster E, Grayburn PA, Kraft
CD, Levine RA, Nihoyannopoulos P, Otto CM, Quinones
MA, Rakowski H, Stewart WJ, Waggoner A, Weissman NJ**

“Recommendations for evaluation of the severity of native valvular
regurgitation with two-dimensional and Doppler echocardiography”

Journal of American Society Of echocardiography (2003);16:777-802