



Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Corso di Laurea Specialistica a Ciclo Unico in Medicina Veterinaria

Tesi di Laurea

RED CELL DISTRIBUTION WIDTH (RDW) IN CANI CON
MALATTIA DEGENERATIVA CRONICA VALVOLARE

Relatore:
Prof.re Carlo Guglielmini

Correlatore:
Dott.ssa Helen Poser

Laureanda:
Valentina Rosso
Matricola: 559799/MV

Anno Accademico 2011/2012

*Ai miei genitori,
a Gabriele.*

INDICE

INTRODUZIONE	1
1. MALATTIA DEGENERATIVA CRONICA VALVOLARE	3
1.1 Epidemiologia	3
1.2 Eziologia	4
1.3 Fisiopatologia	5
1.4 Diagnosi	7
1.4.1 Diagnosi clinica	7
1.4.2 Elettrocardiografia	8
1.4.3 Radiografia toracica	10
1.4.4 Esame ecocardiografico	13
1.5 Terapia	18
1.5.1 Forma asintomatica	19
1.5.2 Pazienti con compressione del bronco principale sinistro in assenza di congestione polmonare ed edema	19
1.5.3 Pazienti con sincope	20
1.5.4 Insufficienza cardiaca di grado lieve-moderato	20
1.5.5 Insufficienza cardiaca grave e pericolosa per la vita	22
2. BIOMARKER CIRCOLANTI E MALATTIE CARDIACHE DEL CANE	25
2.1 Marker di perdita	26
2.1.1 Isoenzima MB della creatina chinasi	26
2.1.2 Troponina cardiaca	27
2.2 Marker funzionali	29
2.2.1 Peptidi natriuretici	29
2.2.2 Endotelina	32

2.3	Altri marker della funzione cardiovascolare	33
3.	RDW E MALATTIE CARDIACHE NELL' UOMO	37
4.	CONTRIBUTO SPERIMENTALE	43
4.1	Materiali e metodi	44
4.1.1	Animali	44
4.1.2	Valutazioni cardiologiche	44
4.1.3	Valutazioni laboratoristiche	45
4.1.4	Analisi statistica	45
4.2	Risultati	46
4.2.1	Dati sugli animali presi in esame	46
4.2.2	Parametri ematobiochimici ed ecocardiografici	47
4.2.3	Valori dell'RDW	49
4.3	Discussione	58
5.	CONCLUSIONI	61
	RINGRAZIAMENTI	63
	BIBLIOGRAFIA	65

INTRODUZIONE

Le malattie cardiache nel cane sono eventi piuttosto frequenti, possono essere suddivise in patologie congenite o acquisite, possono derivare da danni anatomici o funzionali, e possono riguardare nello specifico l'endocardio, il miocardio o il pericardio; tra le patologie cardiache più frequenti nel cane si annoverano la malattia degenerativa cronica valvolare (MDCV) e la miocardiopatia dilatativa.

Per quanto riguarda l' MDCV, essa è la causa più frequente di insufficienza cardiaca, la valvola maggiormente colpita è la mitrale sul cui margine libero si forma una alterazione del collagene con degenerazione ed indebolimento progressivo per cui la valvola diventa insufficiente provocando così variazioni emodinamiche. Il paziente viene portato in visita perché manifesta tosse notturna, tachipnea, intolleranza allo sforzo fisico e alle volte episodi di sincope. Al fine di diagnosticare la patologia si effettua una visita clinica seguita poi da un elettrocardiogramma per evidenziare la presenza di aritmie, una radiografia toracica ed infine un'ecocardiografia con lo scopo di valutare sia l'anatomia che la funzionalità cardiaca. Negli ultimi tempi a questi mezzi per l'indagine diagnostica si è affiancato l'utilizzo dei biomarker utili sia da un punto di vista diagnostico che da un punto di vista prognostico.

I biomarker circolanti specifici per il danno cardiaco possono risultare validi ai fini di identificare prontamente soggetti con patologie cardiache, in taluni casi possono aiutare a definire le condizioni del paziente e possono essere utilizzati anche per monitorare gli effetti di farmaci potenzialmente cardiotossici nonché l'efficacia di un protocollo terapeutico a fronte di patologie cardiache.

Possono essere classificati come marker di perdita, come per esempio la troponina cardiaca, che fisiologicamente è presente a livelli sierici molto bassi e se questi si innalzano notevolmente spesso la causa è da ricercarsi in una necrosi del miocardio; e marker funzionali come i peptidi natriuretici che permettono di valutare la gravità della malattia e controllarne il decorso.

Negli ultimi anni si sono cercati altri parametri di cui poter usufruire nel campo delle patologie cardiache da affiancare ai mezzi diagnostici quali l'elettrocardiografia, la radiografia toracica e l'ecocardiografia.

L'RDW è un indice eritrocitario utilizzato per valutare l'ampiezza della distribuzione volumetrica, e quindi dimensionale, dei globuli rossi. Esso fornisce quindi un dato relativo all'anisocitosi eritrocitaria e può essere rappresentato attraverso l'utilizzo di una curva gaussiana.

Questo indice è sempre stato utilizzato nella diagnosi differenziale dell'anemia, ma studi recenti effettuati in medicina umana hanno messo in evidenza che un aumento dell' RDW è fortemente correlato ad un più elevato tasso di mortalità in pazienti con insufficienza cardiaca cronica (Felker et al., 2007).

In questo elaborato viene descritta l' MDCV del cane e le indagini comunemente utilizzate nell'iter diagnostico. Nella parte sperimentale della tesi vengono riportati i risultati della valutazione dell'RDW in cani con MDCV, in cani con altre patologie e in un gruppo di cani sani. I valori di RDW nei cani cardiopatici sono, inoltre, stati valutati in correlazione con parametri ecocardiografici, indicatori di maggiore gravità della malattia stessa.

CAPITOLO 1

MALATTIA DEGENERATIVA CRONICA VALVOLARE

1.1 EPIDEMIOLOGIA

La malattia cardiaca più frequente, nel cane, è l' MDCV, definita anche endocardiosi, causata da una degenerazione mixomatosa e fibrosa progressiva (Fig. 1.1, Fig. 1.2); essa rappresenta all'incirca il 75% delle malattie cardiache acquisite nel cane (Borgarelli, Haggstrom, 2010).

La valvola mitralica è quella più colpita nel cane con una percentuale dell' 80 % circa (Haggstrom et al., 2007), ma è frequente anche la degenerazione di entrambe le valvole atrioventricolari.

L'età è un fattore molto importante nell'incidenza della patologia (Borgarelli, Haggstrom, 2010), che è poco frequente nei cani giovani, mentre nei cani anziani ha un maggior tasso di manifestazione; sono colpite prevalentemente le razze di taglia medio-piccola come: Papillon, Barboncino, Chihuahua, Bassotto, Cavalier King Charles Spaniel (Haggstrom et al., 2007), Schnauzer, Volpini di Pomerania, Cocker Spaniel, Pechinesi, Boston Terrier, Pincher nani, Whippet (Ware, 2008).

La patologia presenta un'evoluzione lenta nel tempo ed inizialmente non sono manifesti segni clinici evidenti, negli anni vi è una progressione legata all'estensione delle lesioni valvolari, all'età e al sesso (nel maschio c'è un peggioramento ad un'età più precoce).

1.2 EZIOLOGIA

La causa della degenerazione mixomatosa e dell'ispessimento dei lembi valvolari non è ancora del tutto chiara, sembra, però, che diversi fattori concorrano allo sviluppo dell'endocardiosi attraverso la degenerazione del collagene, lo stress valvolare e la compromissione della funzionalità endoteliale (Atkins, 2009).

Le cause possono essere congenite o acquisite; nel caso siano acquisite possono derivare da una endocardite, da un prolasso valvolare, da una lesione. Esiste poi, una predisposizione genetica nello sviluppo di questa patologia che riguarda soprattutto il Cavalier King Charles Spaniel e il Bassotto (Borgarelli, Haggstrom, 2010).

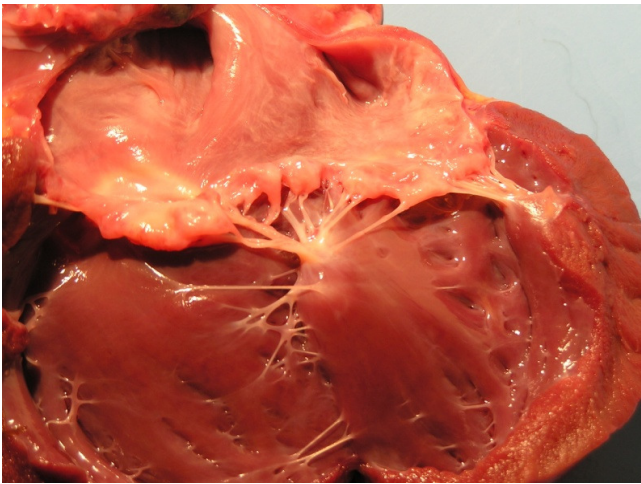


Fig. 1.1: Aspetto macroscopico della valvola mitralica in un cane affetto da degenerazione mixomatosa. Si noti l'ispessimento nodulare dei lembi valvolari. (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo)

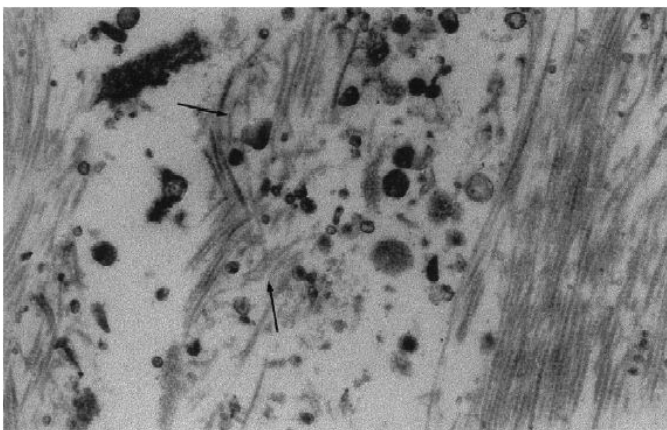


Fig. 1.2: Degenerazione mixomatosa mitralica, le fibre collagene sono frammentate e mostrano un andamento a spirale in una sezione longitudinale. (Pedersen, Haggström, 2000)

1.3 FISIOPATOLOGIA

La gravità dell' insufficienza cronica della valvola mitralica dipende da numerosi fattori quali: la diminuzione del flusso anterogrado, il volume del rigurgito, le dimensioni e la conformazione dell' atrio sinistro e del letto vascolare polmonare, l'insorgenza di tachiaritmie e tromboemboli, o la rottura della parete dell'atrio sinistro.

Il tessuto valvolare in eccesso nelle inserzioni delle corde tendine può protrudere nell'atrio durante la fase di sistole ed è stato osservato che l'entità del prolasso è associato alla gravità della patologia poiché la anormale apposizione dei lembi causa un aumento dello stress a cui vengono sottoposti; anche il danno endoteliale può essere determinante nella patogenesi, poiché causa una alterazione della concentrazione dei fattori favorenti ed inibenti delle sostanze prodotte dalle cellule endoteliali; infine anche il ruolo delle piastrine sembra essere rilevante.

Le lesioni che vengono riscontrate, inizialmente si manifestano come noduli di piccole dimensioni disseminati sul margine libero della valvola. Progressivamente vi è una degenerazione del collagene e l'accumulo di acidi mucopolisaccaridi che causano un progressivo ispessimento dei noduli, nonché un indebolimento della valvola e delle corde tendinee; in associazione a queste degenerazioni si sviluppa un rigurgito che peggiora nei mesi e negli anni; questa lenta progressione permette alla pressione media atriale di rimanere piuttosto bassa.

In seguito il rigurgito mitralico comporta una serie di alterazioni quali: la dilatazione dell'atrio del ventricolo sinistro e dell'anello valvolare ed una ipertrofia eccentrica causata dai meccanismi cardiaci di compensazione atti ad aumentare il volume ematico per irrorare l'organismo. Queste modificazioni compensatorie permettono al cane di rimanere asintomatico per lunghi periodi di tempo.

Un rigurgito mitralico di lieve entità non causa alterazioni evidenti nelle dimensioni o nella funzionalità cardiaca, viene ben tollerato dall'atrio e non modifica il flusso ematico anterogrado, mentre con il progredire delle lesioni aumenta il rigurgito nonostante i meccanismi vascolari, renali (attraverso il rilascio del peptide natriuretico atriale (ANP)) e neuroendocrini contribuiscano per il mantenimento del flusso anterogrado.

Il ventricolo sinistro aumenta il precarico, ossia il volume di fine diastole, e negli stadi avanzati della patologia aumenta la frequenza cardiaca. L'aumento del precarico, secondo la legge di Frank-Starling, comporta un aumento della forza di contrazione, ossia all'inizio della fase di eiezione la resistenza dello svuotamento ventricolare si riduce dal momento che il volume rigurgitato è spinto verso una camera a bassa pressione come l'atrio sinistro, prima che vi sia una pressione sufficiente, per il passaggio di flusso nell'aorta grazie all'apertura della valvola aortica. Questo esita in una ipercinesia della parete ventricolare sinistra. La sistole è mantenuta dal momento che la forza per l'eiezione del flusso dall'atrio sinistro è inferiore rispetto a quella esercitata dal ventricolo sinistro.

Ad ogni modo l'aumento cronico del carico e l'ipertrofia compensatoria causano un calo inesorabile della contrattilità dei miocardiociti.

L'atrio sinistro in questa situazione deve proteggere i vasi polmonari dal rischio di ipertensione; esso viene valutato in base alla velocità con la quale aumenta il volume del sangue rigurgitato e dalle modificazioni delle dimensioni della camera cardiaca poiché tutto questo influisce sull'aumento della pressione atriale provocando una congestione venosa polmonare ed un'edema polmonare; specialmente nei casi in cui il rigurgito aumenti improvvisamente per la rottura di una corda tendinea. Un atrio sinistro aumentato di volume può, molto spesso, causare tosse, soprattutto notturna, in conseguenza della compressione che si viene a creare sul bronco principale sinistro che si trova dorsalmente all'atrio stesso.

I meccanismi neuroendocrini che si innescano in caso di insufficienza cardiaca prevedono l'aumento dell'eccitazione del sistema nervoso simpatico, la depressione del tono vagale e l'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone; l'esito di questi meccanismi consiste in un aumento della portata cardiaca. Questi si attivano per sostenere la circolazione in caso di ipovolemia e di ipotensione, ma è bene tenere presente che a lungo andare tali meccanismi possono essere dannosi per l'organismo poiché possono esitare in edema e versamenti cavitari.

Il sistema nervoso simpatico attraverso la stimolazione β -adrenergica conduce ad un aumento della frequenza e della forza di contrazione cardiaca, mentre la stimolazione del sistema α -adrenergico comporta una vasocostrizione selettiva del sistema vascolare.

Il calo della pressione arteriosa causato dall'insufficienza cardiaca viene percepito dai barorecettori delle arteriole afferenti, questo a livello renale comporta innanzitutto una vasocostrizione delle arteriole afferenti renali e quindi un' ipovolemia a livello renale con conseguente aumento della capacità di riassorbimento dell'ultrafiltrato; l'esito è un maggiore volume ematico totale che comporta un aumento del precarico e di conseguenza un miglioramento della gittata cardiaca.

La stimolazione dei barorecettori a livello renale induce, inoltre, il rilascio di renina che facilita la conversione dell'angiotensinogeno sintetizzato dal fegato in angiotensina I in seguito convertita in angiotensina II, grazie all'ACE, un enzima presente in prevalenza a livello polmonare. L'angiotensina II è un potente vasocostrittore che causa ritenzione di sodio e acqua sia attraverso un effetto diretto sul tubulo prossimale, sia stimolando il rilascio di aldosterone, inoltre aumenta il fabbisogno idrico dell'animale; anche in questo caso si verifica un aumento del precarico con un miglioramento della gittata cardiaca (Oyama, 2009).

1.4 DIAGNOSI

Per arrivare ad una diagnosi è necessario, in qualsiasi caso, iniziare con l'anamnesi ed il segnalamento del paziente, dopodiché si procede con l'esame obiettivo generale, l'esame obiettivo particolare, che in questo caso sarà dedicato all'apparato cardiocircolatorio e in seguito vengono eseguiti gli esami collaterali quali: esame ematobiochimico, radiografia del torace, elettrocardiogramma ed una ecocardiografia. Il tutto deve essere effettuato con la massima accuratezza e precisione.

1.4.1 Diagnosi Clinica

L'animale spesso viene portato a visita per una ridotta tolleranza allo sforzo durante l'esercizio fisico, per tachipnea o tosse che tipicamente si manifesta di notte, al risveglio

o durante l'esercizio, episodi di sincopi, distensione addominale, edema periferico generalmente agli arti.

Le mucose apparenti si esaminano valutando il loro colore e il tempo di riempimento capillare che dovrebbe essere inferiore ai 2 secondi, se così non fosse, vi è una diminuzione della portata cardiaca; mucose cianotiche e grigiastre si presentano in caso di grave insufficienza cardiaca

Il sintomo clinico principale che si può rilevare è il soffio cardiaco sul lato sinistro del torace, udibile nelle fasi iniziali della sistole (Pedersen, Haggström, 2000), all'incirca nel quinto spazio intercostale. Generalmente la sua intensità è correlata con lo stadio di gravità della patologia e viene classificata in base a 6 gradi; nelle fasi iniziali di malattia il soffio aumenta con l'esercizio fisico, diventa più intenso con possibilità di irradiarsi al lato destro del torace con il peggiorare della malattia, inoltre è possibile percepire un fredo aumentato e palpare un fremito sulla parete toracica sinistra. Nel caso in cui l'insufficienza cardiaca sia molto grave si possono sviluppare sia un versamento pleurico che un tamponamento cardiaco il cui esito è l'attenuazione dei toni e dei soffi cardiaci.

Se all'auscultazione si rileva un battito cardiaco tachicardico ed aritmico, questo è indice di aritmia, la frequenza cardiaca aumenta in risposta alla diminuita gittata cardiaca.

Nei casi più gravi si possono riscontrare: tachicardia sopraventricolare, fibrillazione atriale, extrasistoli ventricolari e polso debole. Inoltre negli stadi avanzati con edema polmonare interstiziale si possono auscultare crepitii, suoni schioccanti specialmente alla fine dell'inspirazione.

L'ascite è un sintomo che si manifesta in caso di sintomatologia avanzata, quando anche il settore cardiaco destro è interessato, unitamente ad epatomegalia e splenomegalia.

1.4.2 Elettrocardiografia

L'elettrocardiografia (ECG) non è un elemento utile da un punto di vista puramente diagnostico, ma viene utilizzato per la documentazione e per la classificazione di

eventuali aritmie; essa infatti registra l'attività elettrica del muscolo cardiaco, fornendo informazioni sulla frequenza, sul ritmo cardiaco e sulla conduzione intracardiaca.

Nell' insufficienza valvolare l' ECG può presentarsi normale o con alterazioni di frequenza, ritmo o configurazione dei complessi; generalmente, nelle fasi iniziali è possibile riscontrare aritmia sinusale, che nelle fasi più avanzate scompare lasciando il posto ad una tachicardia sinusale.

Con la malattia degenerativa valvolare è possibile riscontrare una accentuazione del normale tracciato elettrocardiografico, l'onda P più lunga del normale denota un aumento di volume dell'atrio sinistro (Fig. 1.3) mentre un allungamento dei complessi QRS indica un ingrandimento del ventricolo sinistro.

Le extrasistoli sopraventricolari sono piuttosto frequenti, a differenza delle aritmie che compaiono solo in fasi avanzate e che possono aggravare i segni clinici, quali : la fibrillazione atriale (Fig. 1.4), la tachicardia sopra ventricolare, le extrasistoli e la tachicardia ventricolare.

Inoltre, è possibile effettuare anche una valutazione elettrocardiografica per 24 ore consecutive attraverso l'utilizzo dell'Holter che permette la continua registrazione dell'attività elettrica del cuore durante le normali attività quotidiane svolte dall'animale. Questo tipo di monitoraggio risulta utile al fine di riconoscere ed identificare episodi di aritmia, permette riconoscere le cause cardiache di episodi di debolezza o sincopali e viene utilizzato anche per valutare l'efficacia di farmaci antiaritmici. Il monitoraggio Holter consiste in un piccolo registratore che il paziente tiene addosso per 24 ore circa , il proprietario è tenuto ad annotare le attività svolte dell'animale nell'arco del periodo di registrazione, così da permettere successivamente una correlazione con la variazione dei tracciati elettrocardiografici.

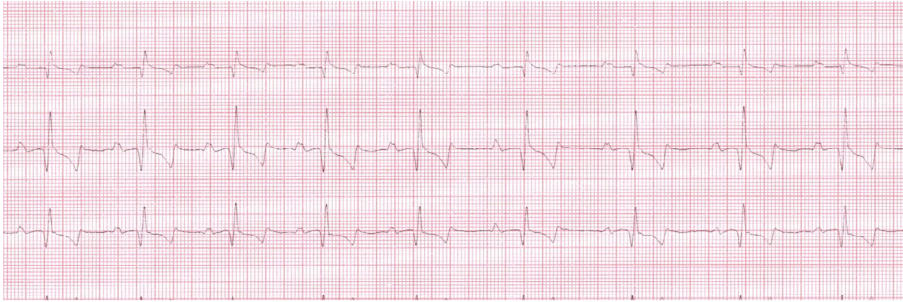


Fig. 1.3: Tracciato elettrocardiografico di cane meticcio maschio 10 anni affetto da malattia degenerativa cronica valvolare. Si noti l'onda P aumentata di durata (50 m/s, cosiddetta onda P mitralica). (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo)

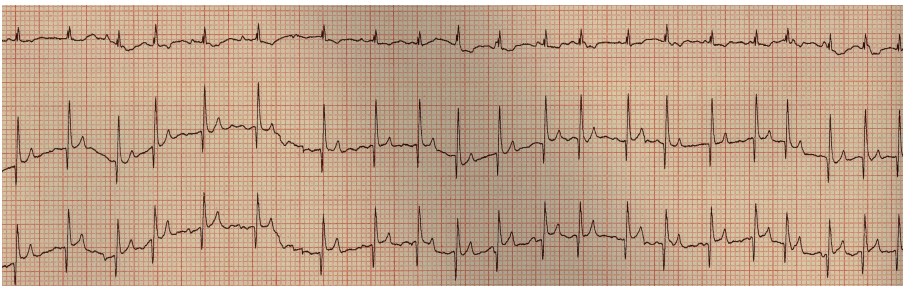


Fig. 1.4: Tracciato elettrocardiografico di cane meticcio maschio 10 anni affetto da malattia degenerativa cronica valvolare. E' presente fibrillazione atriale. (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo)

1.4.3 Radiografia Toracica

L' esame radiografico del torace é utile per escludere altre eventuali cause dei segni clinici rilevati durante la visita clinica; è di fondamentale importanza dal momento che fornisce informazioni sulla forma e sulle dimensioni del cuore, dei grossi vasi e dei polmoni.

Si utilizzano due proiezioni radiografiche: la laterale e la ventrodorsale o dorsoventrale, e per una valutazione precisa e puntuale l'animale deve essere fermo e dritto; questo

permette una corretta valutazione dell'atrio e del ventricolo sinistro, dei bronchi principali, dei vasi polmonari e dei campi polmonari.

Nelle fasi iniziali le radiografie toraciche appaiono normali, sia per quello che riguarda le dimensioni cardiache sia per i campi polmonari e i grossi vasi; ma, con il progredire del rigurgito mitralico aumentano di volume prima l'atrio e poi il ventricolo sinistro che spostano dorsalmente la porzione caudale della trachea e l'albero bronchiale principale fino all'eventuale compressione del bronco principale sinistro (Fig. 1.5, 1.6). Il margine del ventricolo sinistro ingrandito appare arrotondato e si può così notare uno spostamento dell'apice cardiaco.

In caso di concomitante insufficienza tricuspидale si presenta anche un ingrandimento del cuore destro con la comparsa di insufficienza congestizia destra.

Nel cane l'edema polmonare cardiogeno (Fig. 1.7, 1.8) si manifesta soprattutto nelle regioni perilari dorso caudali ed è bilateralmente simmetrico anche se può essere più evidente sul lato destro. L'insufficienza cardiaca destra può causare versamento pleurico, ascite, epatomegalia.

La gravità dell'edema polmonare e il grado di cardiomegalia non sono necessariamente correlati, a differenza dello stadio dell'insufficienza e lo sviluppo di versamento pleurico e ascite conclamati.

Indice radiografico precoce di congestione polmonare è la distensione delle vene polmonari anche se questa non sempre si rende apprezzabile dal punto di vista radiografico.



Fig. 1.5: Radiografia toracica in proiezione latero-laterale di cane meticcio femmina 10 anni. Sono presenti cardiomegalia, dilatazione atriale sinistra, dislocazione dorsale della trachea e compressione bronco principale sinistro (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo).

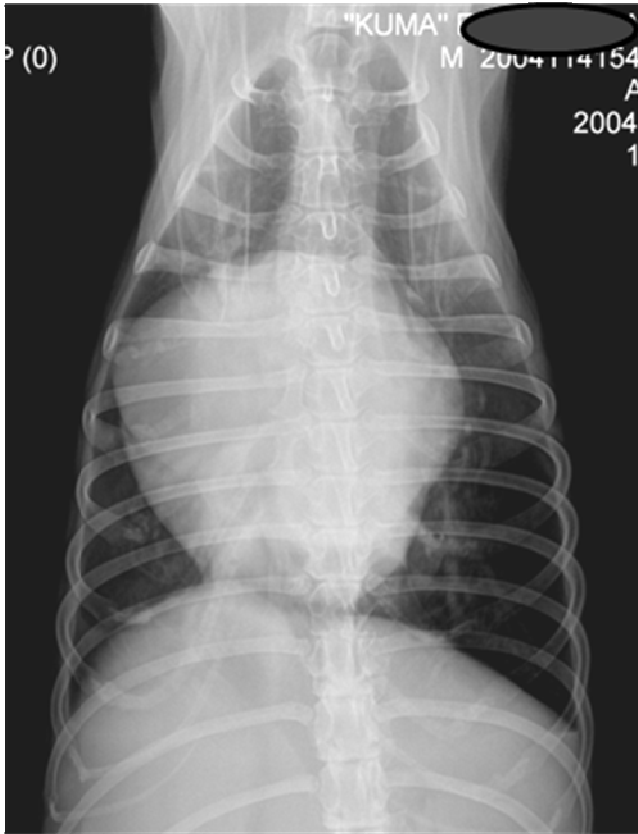


Fig. 1.6: Radiografia toracica in proiezione dorso-ventrale di cane meticcio femmina 10 anni. Si osserva cardiomegalia e dilatazione biatriale (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo).

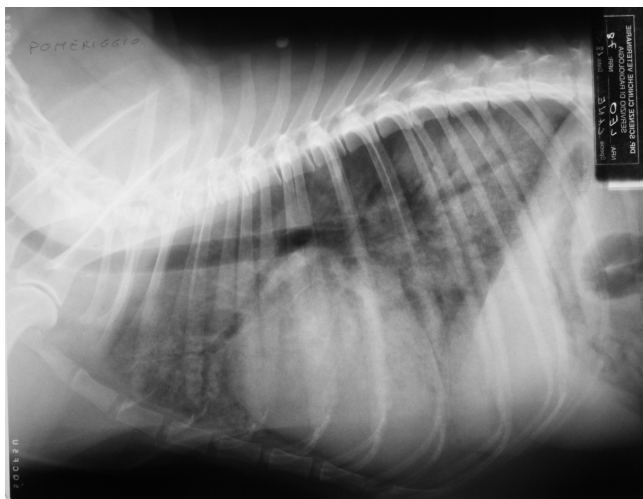


Fig. 1.7: Radiografia toracica in proiezione latero-laterale di cane meticcio maschio 14 anni affetto da malattia degenerativa cronica valvole atrioventricolari. Si noti la cardiomegalia associata ad addensamento interstizio-alveolare ascrivibile a edema polmonare cardiogeno (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Padova).



Fig. 1.8: Radiografia toracica in proiezione dorso-ventrale di cane meticcio maschio 14 anni affetto da malattia degenerativa cronica valvole atrioventricolari. Si noti la cardiomegalia associata ad addensamento interstizio-alveolare ascrivibile a edema polmonare cardiogeno (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Padova).

1.4.4 Esame Ecocardiografico

L'ecocardiografia è uno strumento diagnostico non invasivo che permette una valutazione sia anatomica che funzionale del cuore e delle strutture circostanti attraverso l'utilizzo delle modalità: bidimensionale o 2-D, M-mode e Doppler.

Viene utilizzato sia per diagnosticare che per monitorare nel tempo il decorso della patologia.

La modalità bidimensionale utilizza diversi piani di scansione ottenuti da diverse proiezioni sulla parete toracica; consente una attenta valutazione dell'anatomia della valvola atrioventricolare, permettendo, così, di rilevare l'ispessimento che generalmente è maggiore a livello della punta, e la protusione dei lembi la cui sporgenza nell'anulus mitralico si verifica anche in assenza di rigurgito (Fig. 1.9); tali

alterazioni sono misurabili con una scansione parasternale destra longitudinale e sono direttamente correlate con la gravità della patologia.

E' importante esaminare tutta la valvola, dato che le lesioni possono non essere uniformemente distribuite, e anche le corde tendinee poiché, proprio, la loro rottura causa il prollasso del lembo valvolare interessante l'atrio sinistro.

Le dimensioni dell'atrio sinistro sono strettamente correlate alla gravità della malattia e per valutarlo l'immagine migliore la si ottiene con la scansione parasternale destra in asse corto perché permette di paragonare le dimensioni dell'atrio sinistro con la radice aortica (LA/Ao); fisiologicamente questo rapporto deve essere di $\leq 1,6$; nelle fasi iniziali della patologia non è presente una sua variazione che tende a manifestarsi in stadi più avanzati. Con il progredire della malattia le dimensioni dell'atrio sinistro aumentano (Fig. 1.10) e nei cani con insufficienza cardiaca congestizia il rapporto LA/Ao ≥ 2 . In uno studio pubblicato nel 2010 (Borgarelli, Haggstrom, 2010) si è visto che il rischio di decesso in pazienti con un rapporto LA/Ao $> 1,7$ è maggiore di oltre 2 volte rispetto a pazienti con un rapporto minore. Inoltre anche in base allo studio QUEST, uno studio internazionale condotto tra cani con insufficienza cardiaca congestizia, le dimensioni dell'atrio sinistro sono risultate uno dei più importanti fattori predittivi.

La modalità M-mode viene utilizzata per la misurazione delle camere cardiache e dello spessore delle pareti, permette una valutazione quantitativa del movimento dei lembi valvolari e della parete del setto durante le diverse fasi del ciclo cardiaco. Questa modalità permette la ricostruzione in tempo reale di strutture rilevate lungo una data linea di interrogazione, visibili sul monitor dell'ecografo come linee verticali. Attraverso l'utilizzo dell' M-mode (Fig. 1.12) è interessante valutare il ventricolo sinistro il cui aumento di volume associato ad un normale spessore della parete è segno di un maggior volume di carico mentre un aumento di volume a fine diastole indica un innalzamento nel precarico e quindi un rapido svuotamento del ventricolo verso l'atrio nel quale la pressione è bassa.

La presenza di un versamento pericardico importante può indicare una complicazione secondaria della patologia, ovvero la rottura dell'atrio sinistro, mentre un lieve versamento lo si può riscontrare in caso di insufficienza congestizia destra.

In presenza di rigurgito mitralico medio-grave gli indici della fase di eiezione quali, la frazione di accorciamento del ventricolo sinistro, la frazione di eiezione, si presentano aumentati e questo implica una riduzione della contrattilità miocardica.

Per quanto riguarda l'EPSS (E point to septal separation), valutabile attraverso l'M-mode, questo rappresenta la distanza tra il punto di massima apertura della valvola mitralica e il setto interventricolare e normalmente dovrebbe essere < 6 mm, ma, anche tale valore, si innalza in corso di patologia.

Attraverso il Doppler è possibile determinare la presenza di un rigurgito transvalvolare e quantificarne la gravità.

Per convenzione il sangue che fluisce verso la sonda, nel Doppler spettrale è rappresentato nel monitor dell'ecografo al di sopra della linea dello zero e nel color Doppler con il colore rosso, mentre il sangue in allontanamento è rappresentato rispettivamente al di sotto della linea dello zero e con il colore blu.

Il Doppler spettrale permette di identificare il getto rigurgitato e la sua velocità; nei cani affetti da malattia degenerativa valvolare, ma che non presentano insufficienza del miocardio, la velocità del getto rigurgitato è intorno ai 5-6 m/sec. Il Doppler spettrale viene inoltre utilizzato per lo studio del flusso transmitralico in diastole, dal momento che il rigurgito mitralico significativo presenta velocità di riempimento diastoliche aumentate.

Il color Doppler consente di confermare la presenza di un jet rigurgitante (Fig. 1.12, 1.13) anche di piccola entità, e permette di eseguire la valutazione sia della direzione che dell'entità del disturbo del flusso nell'atrio.

È bene tener presente che in cani che non manifestano altre anomalie valvolari, la presenza di piccoli getti in prossimità della valvola atrioventricolare sinistra non è da ritenersi significativa.

Il volume mitralico rigurgitato può essere quantificato mediante l'area di superficie prossimale di isovelocità (PISA, proximal isovelocity surface area), se è presente un rigurgito mitralico il flusso tenderà a tornare verso il lato ventricolare dell'orifizio della valvola mitrale e tale area esaminata mediante il color Doppler ha l'aspetto di una emisfera; calcolando il raggio di tale emisfera, la velocità di aliasing, la velocità massima del jet rigurgitante, e l'integrale del tempo della velocità del flusso di rigurgito è possibile ottenere la frazione di gittata cardiaca rigurgitata. È anche possibile

misurarlo indirettamente attraverso il calcolo della differenza tra il volume della gittata cardiaca totale e il volume del flusso anterogrado passante per l'aorta; il volume della gittata cardiaca lo si può ottenere attraverso le misurazioni del ventricolo sinistro in M-mode, il flusso anterogrado lo si ottiene modificando la misura della sezione dell'aorta per l'integrale del tempo della velocità misurato con il Doppler spettrale seguendo il flusso dell'aorta.

Nei cani con rigurgito mitralico medio o grave oltre il 75% della gittata cardiaca può essere rigurgitata nell'atrio sinistro.

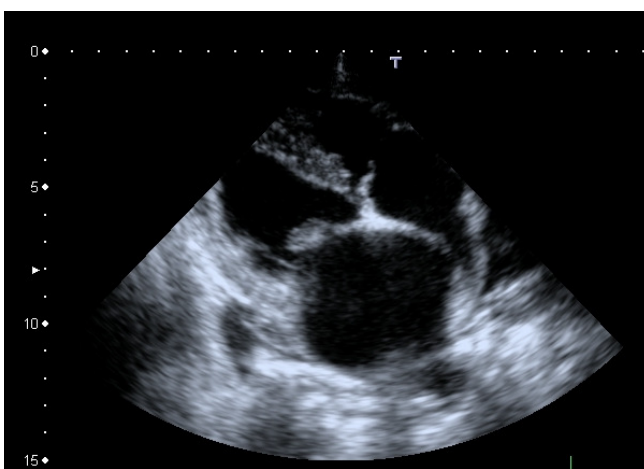


Fig. 1.9: Ecocardiografia bidimensionale ottenuta dalla finestra parasternale destra con proiezione asse lungo quattro camere in un cane con malattia degenerativa valvolare. E' presente ispessimento del lembo settale mitralico (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo)

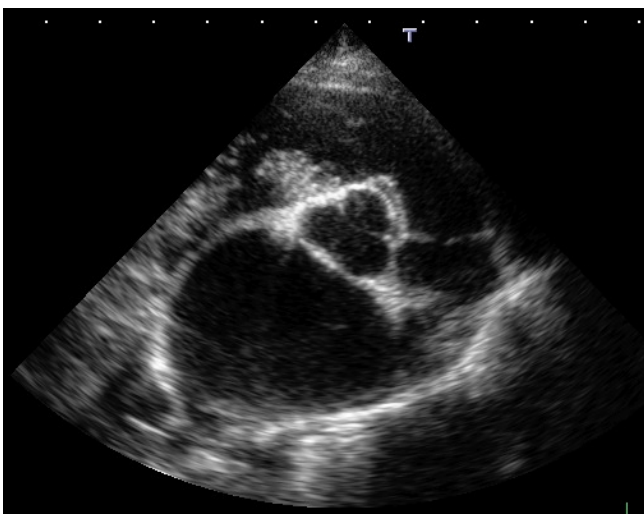


Fig. 1.10: Ecocardiografia bidimensionale ottenuta dalla finestra parasternale destra con proiezione asse corto a livello della radice aortica in un cane con malattia degenerativa cronica valvolare. E' presente dilatazione atriale sinistra (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo).

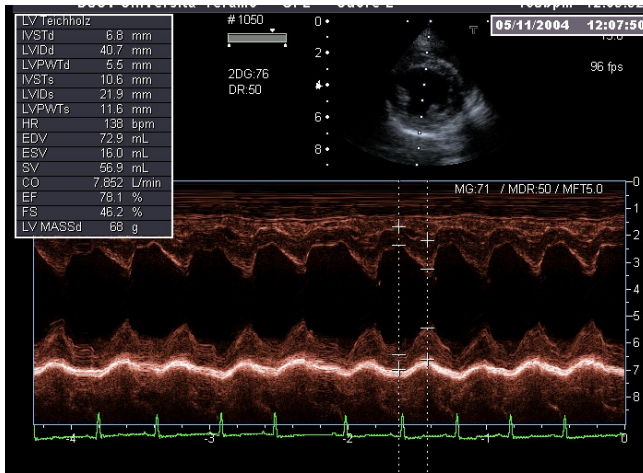


Fig. 1.11: Ecocardiografia M-mode del ventricolo sinistro ottenuta dalla finestra parasternale destra in un cane con malattia degenerativa cronica valvolare. E' presente ipercinesia ventricolare sinistra (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo).

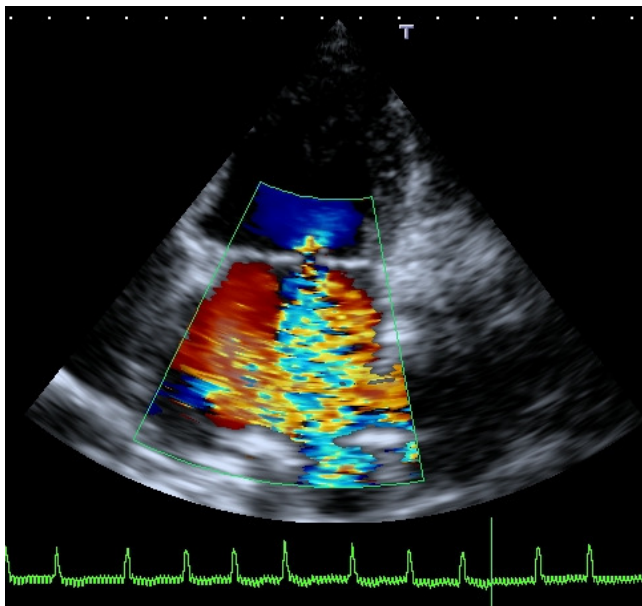


Fig. 1.12: Ecocardiografia Doppler a codice di colore del flusso trans-mitralico ottenuta dalla finestra parasternale sinistra con proiezione apicale 4 camere in un cane con malattia degenerativa valvolare. E' presente un flusso rigurgitante sistolico (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo).

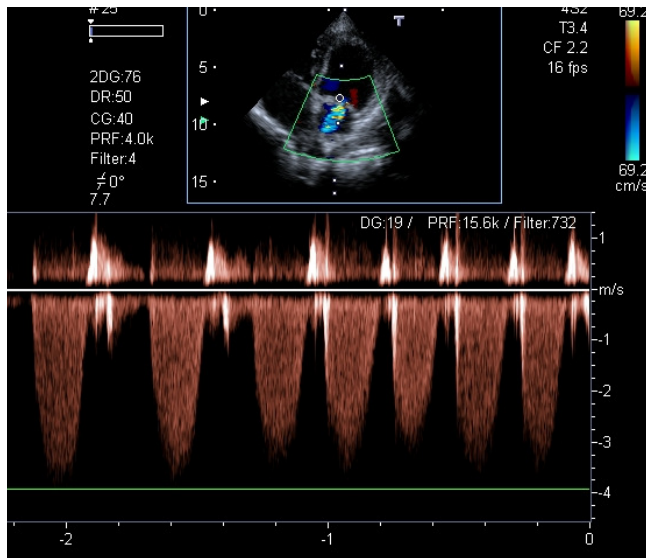


Fig. 1.13: Ecocardiografia Doppler a onda continua del flusso trans-mitralico ottenuta dalla finestra parasternale sinistra con proiezione apicale 4 camere in un cane con malattia degenerativa valvolare. E' presente un flusso rigurgitante sistolico a velocità relativamente bassa (3,4 m/s) (Foto Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Teramo).

1.5 TERAPIA

La terapia prescritta in caso di malattia degenerativa valvolare non ha lo scopo di prevenire o inibire la degenerazione ma si limita a migliorare la qualità di vita dell'animale attraverso il controllo della sintomatologia e prolungando il tempo di sopravvivenza per quanto possibile.

La terapia risolutiva che viene utilizzata in medicina umana consiste nel trapianto valvolare, vi sono due tipi di protesi valvolare oggi disponibili: le protesi meccaniche e quelle biologiche.

Le protesi valvolari meccaniche, costituite da una lega di acciaio ricoperta in carbonio, risultano molto vantaggiose poiché hanno una durata illimitata nel tempo ma lo svantaggio per il paziente consiste nell'assunzione a vita di farmaci anticoagulanti, questo perché il sangue a contatto con un materiale artificiale tende a formare coaguli.

Le protesi valvolari biologiche sono costruite partendo da protesi valvolari animali, principalmente di suino. Il vantaggio é che la terapia anticoagulante deve essere utilizzata solo per pochi mesi mentre lo svantaggio, di non poca importanza, consiste nella durata della protesi valvolare che è limitata nel tempo, all'incirca 10 – 15 anni.

In medicina veterinaria l'utilizzo di protesi valvolari non è utilizzato.

Con l'utilizzo di un trattamento adeguato si può ottenere una compensazione clinica per mesi o anni, ricordando però, la necessità di controlli frequenti e aggiustamenti dei dosaggi farmacologici con il progredire della malattia.

Al fine di identificare una più corretta terapia può risultare utile la classificazione del paziente in una determinata classe di insufficienza cardiaca.

1.5.1 Forma asintomatica

Inizialmente l'insufficienza mitralica è compensata, l'animale può manifestare una ridotta attività fisica, ma spesso è difficile valutare con obiettività la ridotta capacità di esercizio dal momento che nella maggior parte dei casi si tratta di cani anziani e di piccola taglia. Questa situazione comporta una riflessione sull'utilità o meno dell'instaurare una terapia prima della comparsa dei sintomi di scompenso cardiaco.

In questo stadio precoce non è necessario modificare la dieta né diminuire l'esercizio fisico del paziente, mentre con l'avanzare della patologia si consiglia la diminuzione nell'ingestione di sodio e si consiglia di evitare l'attività fisica troppo faticosa.

1.5.2 Pazienti con compressione del bronco principale sinistro in assenza di congestione polmonare ed edema

Con il progredire della patologia si verifica un rilevante aumento delle dimensioni dell'atrio sinistro che comprimendo il bronco sinistro principale può provocare tosse; in tal caso la terapia può mirare a sopprimere lo stimolo tossigeno con l'utilizzo di butorfanolo (0,55-1,1 mg/kg per os ogni 6-12 ore), idrocodone bitrarrato (0,22 mg/kg per os ogni 4-8 ore), o destrometorfano (0,5-2 mg/kg per os ogni 6-8 ore) oppure si può optare per l'utilizzo di un broncodilatatore come l'aminofillina (8-11 mg/kg ogni 6-8 ore), la teofillina che ha un'azione più duratura (20 mg/kg per os ogni 12 ore), la detrifillina anch'essa con un'azione più duratura (25-30 mg/kg per os ogni 12 ore).

Sono da utilizzarsi con una maggiore attenzione i farmaci antagonisti dei β_2 recettori perché possono portare ad un aumento di frequenza e contrattilità cardiaca.

I diuretici comportano la diminuzione del volume circolante, gli arteriodilatatori riducono l'impedenza aortica al fine di far decrescere il rigurgito con lo scopo di diminuire il volume dell'atrio sinistro ma i diuretici si preferisce utilizzarli in stadi più avanzati perché possono causare alterazioni elettrolitiche

Si possono utilizzare anche gli ACE-inibitori previa controllo della funzione renale e degli elettroliti, in quanto risultano utili per via della loro azione di dilatazione arteriosa e per l'aumento della diuresi legata all'inibizione dell'enzima ACE.

1.5.3 Pazienti con sincope

- Senza congestione ed edema polmonare

Le sincope si possono presentare sporadicamente o anche più volte al giorno ed è necessario accertarsi che non dipendano da altre cause che non siano l'insufficienza valvolare; si può eseguire l'esame dell'Holter nelle 24 ore per valutare episodi di ritmo sopraventricolare accelerato seguito da bradicardia con svenimento del cane e in tal caso è consigliata la somministrazione di digossina. Mentre i β -bloccanti spesso non sono ben tollerati dai pazienti.

- Con edema polmonare

Se, invece, è presente l'edema polmonare la terapia è volta a diminuire la pressione venosa per ridurre l'edema, mantenere una gittata cardiaca adeguata, ridurre il rigurgito e proteggere il cuore dagli effetti prolungati dei neuroormoni.

In taluni casi si rende addirittura necessaria l'ossigenoterapia.

1.5.4 Insufficienza cardiaca di grado lieve-moderato

Tali pazienti possono manifestare tosse, tachipnea e dispnea mentre la presenza di ascite dipende dalla gravità della situazione.

In caso di insufficienza cardiaca congestizia nelle radiografie del torace è possibile osservare la congestione venosa polmonare e un aumento dell'opacità del polmone.

I pazienti che rientrano in questo stadio della malattia richiedono una terapia a base di diuretici e ACE-inibitori. Per quanto riguarda i diuretici il principio attivo più comunemente utilizzato è la furosemide, il cui dosaggio viene deciso in base alla sintomatologia, e non in base alla presenza di edema interstiziale nella radiografia ed è bene evitare un dosaggio eccessivo perché si corre il rischio che l'animale manifesti debolezza, ipotensione, sincopi, aggravamento dell'azotemia pre-renale, alterazione dell'equilibrio acido-base ed elettrolitico. Se la patologia ha grado lieve i dosaggi per i primi 2-3 giorni possono essere 2-3 mg/kg ogni 8-12 ore per poi venire abbassati a 1-2 mg/kg ogni 12-48 ore.

Gli ACE-inibitori che vengono generalmente utilizzati sono: enalapril, benazepril, lisinopril, ramipril e imidapril. Il loro dosaggio è stabile, gli effetti collaterali sono piuttosto rari e la somministrazione con i diuretici crea un sinergismo d'azione. In uno studio pubblicato nel 2005 (Moesgaard S.G. et al, 2005) è stato dimostrato che l'utilizzo a breve termine di diversi ACE-inibitori, in particolare è stato studiato l'utilizzo di enalapril e quinapril nei Cavalier King Charles Spaniel, non presenta differenze significative.

L'utilizzo della digossina e di altri farmaci ad azione inotropica positiva è controverso; è considerata utile in caso di innalzamento della frequenza cardiaca, di tachicardie sopraventricolari, come la fibrillazione atriale e per eliminare o quantomeno limitare le sincopi. I farmaci inotropici positivi possono ridurre l'entità del rigurgito mitralico grazie alla loro azione di diminuzione del volume del ventricolo sinistro e dell'anulus mitralico; il rischio nella somministrazione di questi farmaci è dato dalla maggiore possibilità di rottura delle corde tendinee.

Il pimobendan, che è un farmaco inotropico positivo, è stato oggetto di numerosi studi (Haggstrom et al., 2008) e di recenti pubblicazioni per quanto riguarda il suo utilizzo nella malattia valvolare degenerativa e i risultati indicano che i soggetti in cura con questo farmaco hanno minor probabilità di morire o di non rispondere positivamente alla terapia rispetto ai cani trattati solamente con ACE-inibitori e diuretici. Si è notato inoltre un netto miglioramento dello stato clinico generale del paziente dovuto anche all'effetto vasodilatatore delle arterie.

Generalmente dopo 2 settimane dall'inizio della terapia è consigliata una visita per controllare la risposta del paziente e per stabilire il dosaggio di mantenimento del diuretico, dopodiché si raccomandano visite periodiche di controllo ogni 6-12 mesi in base alla gravità della situazione raccomandando al proprietario di fare attenzione alla quantità di sodio assunta con la dieta e ai periodi climatici particolarmente caldi.

Per i pazienti con scompenso cardiaco il dosaggio del diuretico nell'arco degli anni viene gradualmente aumentato per ovviare al problema della dispnea causata dall'edema polmonare o dall'ascite (dove nei casi più gravi si necessita di paracentesi); quando la furosemide arriva ad un dosaggio di 4-5 mg/kg ogni 8-12 ore è necessario utilizzare un altro diuretico, in aggiunta, per contrastare il blocco sequenziale dei nefroni e il farmaco di prima scelta è lo spironolattone che è un antagonista dell'aldosterone e permette un risparmio di potassio. In questa situazione è necessario fare attenzione ai dosaggi e al rischio di iperazotemia pre-renale, ipotensione, alterazione dell'equilibrio acido-base e degli elettroliti.

1.5.5 Insufficienza cardiaca grave e pericolosa per la vita

Si presenta come un evento fulminante le cui cause sono: la rottura di una grande corda tendinea, la fibrillazione atriale, l'insufficienza cardiaca non trattata in modo consono, l'eccessiva attività fisica; in questi casi i sintomi dell'insufficienza si manifestano anche a riposo, il paziente presenta dispnea, tachipnea, tosse con espettorato bianco o rosato e radiograficamente si può notare un grave edema interstiziale o alveolare. In tal caso è necessario non stressare l'animale dal momento che si trova in pericolo di vita e agire con una terapia d'attacco; si può somministrare furosemide per via endovenosa o, qualora non sia possibile, per via intramuscolare. Il dosaggio dipende dalla gravità dei sintomi e da una eventuale terapia orale preesistente. Se il paziente è in ipossiemia è bene mettere in atto l'ossigenoterapia e in seguito, per stabilizzare il paziente, si possono somministrare vasodilatatori arteriolarari come l'idralazina per via orale o la nitroprusside per via endovenosa e farmaci inotropo positivi come il pimobendan. In seguito è necessario un monitoraggio costante della frequenza respiratoria per controllare la risposta dell'organismo alla somministrazione della furosemide,

ricordando che questa può indurre alterazioni negli esami di laboratorio che però non costituiscono un problema clinico e che tendono a normalizzarsi dal momento in cui il paziente ricomincia a bere e ad alimentarsi.

CAPITOLO 2

BIOMARKER CIRCOLANTI E MALATTIE CARDIACHE NEL CANE

I biomarker circolanti possono fornire informazioni diagnostiche e prognostiche riguardo al danno cardiaco.

Sono stati condotti numerosi studi sulla loro utilità per lo screening biochimico delle patologie cardiache e per la valutazione dello stato generale del cuore; possono aiutare ad individuare precocemente le alterazioni cardiologiche con la possibilità di un intervento tempestivo nei confronti del paziente, permettono una più rapida valutazione delle risposte alle terapie ed un maggior controllo nell'utilizzo di farmaci cardiotossici, inoltre possono essere utilizzati in aggiunta ai mezzi diagnostici convenzionali anche in caso di risultati equivoci con altri test.

In alcuni casi si è notato che nei pazienti animali può essere maggiormente utile valutare più marker insieme piuttosto che singolarmente (Boswood, 2009).

I biomarker possono essere suddivisi come marker di perdita e marker funzionali, i primi sono marker di integrità delle cellule miocardiche mentre i secondi, sono rappresentati da proteine specifiche della funzione cardiaca.

2.1 MARKER DI PERDITA

I marker di perdita sono indicatori di una degradazione cellulare e/o di un danno tissutale; infatti nel torrente circolatorio si rilevano i costituenti intracellulari, i quali derivano da cellule che si rompono o che perdono l'integrità di membrana.

Il danno delle cellule miocardiche può derivare da: sovraccarico volumetrico e pressorio, ipossia, ischemia, anormale stimolazione neuroendocrina, tossine o citochine; le anomalie vengono rilevate attraverso alterazioni della concentrazione sierica dei marker e dipendono dalla loro massa molecolare, dalla compartimentazione intracellulare, dalla solubilità, dalla modalità cinetica di rilascio, da caratteristiche analitiche, dal flusso ematico e linfatico locale, nonché dalla via di eliminazione dal circolo.

2.1.1 Isoenzima MB della creatina chinasi

La creatina chinasi (CK) è un enzima che si colloca all'interno della membrana cellulare, con una sub-unità M (muscolare) e una C (cerebrale), e la sua funzione principale è quella di catalizzare una reazione chimica reversibile in cui viene trasferito un gruppo fosfato dalla creatina fosfato all'ADP per formare ATP, rendendo così disponibile energia per la funzione muscolare.

La creatina chinasi comprende tre isoenzimi così suddivisi: CK-MM, CK-MB, CK-BB, rispettivamente presenti nel muscolo striato ed in parte cardiaco, nel muscolo cardiaco e nell'encefalo, nei nervi periferici e nel liquor.

Questo enzima esplora il danno muscolare ed è normale che una certa quota abbia accesso al sangue a seguito della morte fisiologica di un certo numero di cellule muscolari.

Nello specifico se si rileva un aumento della quota di CK-MB circolante, questo può indicare un danno del tessuto muscolare cardiaco. Inoltre bisogna tenere in considerazione che, in seguito ad un danno miocardico si può osservare un marcato aumento della sua sintesi nei miocardiociti.

In seguito ad un danno acuto delle cellule miocardiche la CK-MB viene rilasciata precocemente, viene poi inattivata tramite proteolisi ed eliminata dal sistema reticolo-endoteliale.

2.1.2 Troponina cardiaca

La troponina (Tn), che è localizzata nei filamenti sottili dell'apparato contrattile, è un complesso di tre subunità: Troponina I, C, T normalmente presenti nel muscolo cardiaco e scheletrico dove la TnC lega il calcio, la I ha un'azione di inibizione che regola la contrazione muscolare e la T lega il complesso troponina-tropomiosina ai filamenti di actina.

Normalmente i livelli sierici sono molto bassi, un danno delle membrane cellulari e la necrosi delle cellule causa il rilascio della troponina cardiaca (cTn) nel circolo sanguigno e le caratteristiche di tale rilascio dipendono dal tipo di danno e dalla sua gravità; inoltre, è bene tenere presente che un minimo aumento della cTn si verifica anche dopo sforzi notevoli e in caso di patologie non cardiache. Se la degradazione delle fibrille muscolari si verifica lentamente il rilascio della cTn in circolo è bifasico e il pool citosolico è rilasciato per primo; se il danno è di maggiore entità il rilascio, persistente e protratto, deriva dalle riserve strutturali che è segno di danno cellulare irreversibile. I dati più recenti sul rilascio della cTn suggeriscono che è degradata in frammenti già all'interno dei miociti (Haggstrom et al., 2007) e una volta rilasciati sono più vulnerabili a modificazioni biochimiche e questo altera il processo di riconoscimento degli anticorpi mono clonali.

In seguito a danno miocardico la concentrazione sierica di cTn si innalza in circa 4 ore, arriva al picco massimo in 12/24 ore per poi scendere in un lasso di tempo che va da una a tre settimane; il catabolismo dipende da organi come fegato, pancreas e sistema reticolo-endoteliale.

La concentrazione può aumentare in caso di: necrosi miocardica, infiammazione miocardica, traumi cardiaci più o meno gravi, ICC, cardiomiopatia ipertrofica e dilatativa, patologie ischemiche, congenite o degenerative, patologie pericardiche.

Per quanto riguarda le analisi, gli immunodosaggi che vengono comunemente utilizzati nell'uomo, per la cTnI e per la cTnT, possono essere utilizzati per rilevare il danno miocardico anche nel cane, per via della forte conservazione dell'immunoreattività delle cTn (Haggstrom et al., 2007).

I test di dosaggio delle cTnT presenti attualmente, sono di una sola ditta e per questo le concentrazioni di cut off e la precisione sono uniformi a differenza dei numerosi test per il dosaggio della cTnI in cui è necessario porre l'attenzione sul tipo di analisi utilizzata e sui requisiti dei campioni prima di interpretare i risultati.

I livelli basali di cTn circolanti, nel cane non sono rilevabili; inoltre bisogna ricordare che la cTnT è stabile ad una temperatura di 4°C e quando viene congelata mentre la cTnI è maggiormente sensibile alla degradazione precoce dei suoi epitopi.

Per poter distinguere tra le micro necrosi del miocardio dai danni più gravi, nell'uomo si utilizzano due punti di cut off: il limite superiore dell'intervallo di riferimento è il 97,5° percentile dei valori misurati normalmente nelle popolazioni di controllo, l'altro punto di cut off è un limite superiore a 97,5° che indica un danno miocardico rilevante da un punto di vista clinico.

Appare però, più utile da un punto di vista clinico, al fine di diagnosticare la necrosi del miocardio, definire i pazienti come “negativi per le troponine/lievemente aumentate” “positivi per le troponine/moderatamente o sieramente aumentate” ed effettuare un monitoraggio dinamico della concentrazione delle cTn (Haggstrom et al., 2007).

La cTn che è presente in circolo, e che viene valutata durante le analisi, presenta una elevata specificità per il danno delle cellule del miocardio ed una sua concentrazione elevata è fortemente correlata con la necrosi del muscolo cardiaco, per questo la sua valutazione nelle indagini diagnostiche è molto importante

Nella cardiomiopatia dilatativa si assiste ad un rimodellamento del ventricolo sinistro e questo comporta la perdita intermittente o permanente di cTn; in caso di insufficienza cardiaca associata a patologie delle coronarie o miocarditi focali può insorgere la degradazione dell'apparato contrattile e il conseguente aumento della cTn circolante; anche in pazienti sottoposti a chemioterapia con farmaci che possono causare cardiotoxicità si può assistere alla medesima situazione.

Altri casi in cui è possibile rilevare un aumento delle cTn in circolo sono: danno ai miociti per miocardite o endomiocardite, cani con patologie pericardiche che

interessano secondariamente anche il miocardio, in risposta ad una ipotensione grave, in caso di danni sub endocardici in pazienti con ipertensione arteriosa, stenosi delle valvole semilunari, tachicardia, sovraccarico volumetrico od embolia polmonare.

Tra i marker di perdita si annoverano anche α -idrossibutirrato deidrogenasi e la mioglobina ma entrambi non vengono utilizzati per la loro scarsa specificità e la mioglobina anche per la sua rapida eliminazione in seguito al danno.

2.2 MARKER FUNZIONALI

I marker funzionali risultano utili per identificare patologie cardiache in atto, per valutare la gravità delle malattie e il loro decorso, per monitorare l'efficacia delle terapie e ottenere informazioni prognostiche.

2.2.1 Peptidi natriuretici

I peptidi natriuretici possono essere suddivisi in: peptide natriuretico atriale (ANP), peptide natriuretico cerebrale (BNP), peptide natriuretico di tipo C (CNP), peptide natriuretico drenoaspis (DNP), e l'urodilatina.

L' ANP e il BNP sono ritenuti i peptidi più importanti, la loro sintesi è legata allo stiramento delle pareti cardiache e il loro innalzamento nel circolo sanguigno è legato all'aumento del volume vascolare e alla diminuzione della clearance renale. Sono importanti regolatori dell'omeostasi del sale e dell'acqua, agiscono attraverso un'azione di natriuresi, diuresi e vasodilatazione bilanciata che si esplica mediante l'antagonizzazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, del sistema nervoso simpatico e del rilascio e dell'azione della vasopressina. Inoltre prevengono la fibrosi del miocardio, modulano la crescita cellulare e l'ipertrofia cardiaca.

Sono ritenuti degli importanti marker funzionali (Sisson, 2004) di diagnosi, di prognosi e di terapia del disturbo cardiaco associato a ritenzione idrica.

Gli effetti biologici di questi peptidi sono mediati da appositi recettori distribuiti nel cuore, nei reni, nell'endotelio e nella muscolatura liscia dei vasi, nelle ghiandole surrenali e nel sistema nervoso centrale.

L'ANP è prodotto fisiologicamente a livello atriale, ma in caso di ipertrofia ventricolare o in caso di ischemia miocardica può essere prodotto anche a livello ventricolare e può essere presente anche in tessuti extracardiaci; è sintetizzato come pre-proANP, il precursore proANP viene stoccato nei granuli delle cellule muscolari atriali, viene poi diviso da una proteasi di membrana e rilasciato nel sangue. La sua secrezione in parte è legata ad una produzione ex novo ma per la maggior parte è rilasciato dai granuli in cui è depositato e questo avviene durante l'espansione volumetrica intravascolare. La sua concentrazione nel plasma può subire modificazioni piuttosto repentine in base ad alterazioni del carico volumetrico o in caso di alterazioni della frequenza cardiaca ed è un buon indice di modificazioni emodinamiche.

Il BNP fisiologicamente è prodotto a livello atriale, in parte anche a livello ventricolare ed è presente anche una piccola produzione extracardiaca. In caso di patologie cardiache la produzione ventricolare diventa preponderante. Anch'esso è stoccato in granuli, ma in quantità minore, perciò in caso si necessiti di un aumento del rilascio è necessario un aumento della sintesi.

La sua secrezione è controllata a livello di trascrizione e perché aumenti deve prima verificarsi un incremento nella produzione di acido ribonucleico messaggero; quindi è necessario uno stimolo protratto nel tempo per individuare un suo aumento nel plasma.

La produzione atriale di BNP aumenta entro un'ora dallo stimolo mentre la produzione ventricolare impiega qualche ora per aumentare, le cause dell'innalzamento sono generalmente alterazioni del carico volumetrico.

L'eliminazione dei peptidi natriuretici può avvenire mediante legame con NPR-C seguito da endocitosi e degradazione lisosomiale, mediante degradazione ad opera delle endopeptidasi ed in parte per via renale, epatica e polmonare.

Per quanto concerne il dosaggio di questi marker sono disponibili più kit non ancora standardizzati il che non rende possibile ottenere intervalli di riferimento applicabili in via generale; senza contare che la loro concentrazione plasmatica è dipendente da età, sesso e peso corporeo.

Attualmente i metodi più utilizzati sono gli immunodosaggi competitivi o gli immunodosaggi sandwich non competitivi; i primi comprendono i metodi RIA (radioimmunoassay) e EIA (electroimmunoassay), i secondi comprendono i metodi IRMA ed EIMA.

I RIA usano tracciati marcati con sostanze radioattive e richiedono una lunga fase di estrazione, il limite di rilevamento è più elevato dei metodi IRMA che non necessitano di estrazione e, inoltre, sono ritenuti maggiormente sensibili e specifici.

I pro-NT sono facili da utilizzare in analisi immunometriche; gli anticorpi contro i BNP sono specie-specifici, a differenza di quelli anti-ANP, per questo, non si possono sfruttare gli stessi kit che vengono usati in medicina umana.

In linea generale si può sostenere che la concentrazione fisiologica in circolo di ANP e BNP sia molto bassa, e in base al metodo utilizzato varia tra 3-15 pmol/L; come già accennato le fluttuazioni del BNP in circolo sono meno repentine rispetto all'ANP. La concentrazione fisiologica in circolo nel cane di proANP-NT deve essere inferiore a 500 pmol/L; inoltre nel Cavalier King Charles Spaniel con patologia cronica della valvola mitralica è stato suggerito come cut off ottimale 700 pmol/L (Haggstrom et al., 2007).

L' utilizzo dei peptidi natriuretici come marker funzionali nelle patologie cardiache è ancora in fase di studio, ma sembra essere particolarmente promettente, anche se non sono specifici per patologie cardiache particolari; infatti possono aumentare in caso di: patologia cronica della valvola mitralica, miocardiopatia dilatativa, insufficienza cardiaca indotta da tachicardia, stenosi aortica, patologie cardiache congenite e filariosi cardiopolmonare; inoltre risultano utili per discriminare tosse e dispnea di origine cardiogena o non cardiogena, ed è utile tenere presente che i peptidi natriuretici nel cane sembrano essere correlati alla classe di insufficienza cardiaca, rivestendo quindi un' importante funzione prognostica. Sembra che l'ANP e il proANP-NT siano maggiormente prognostici in caso di patologia cronica mitralica e in alterazioni cardiache da sovraccarico volumetrico acuto, mentre il BNP è maggiormente sensibile in caso di disfunzione sistolica e diastolica cronica del ventricolo sinistro, dove aumenta in maniera proporzionale alla gravità, e nell'ipertrofia ventricolare (Chetboul V., 2009).

In due studi pubblicati entrambi, nel 2008 (Boswood, 2008; Fine et al., 2008), si è visto che le concentrazioni circolanti di NT-proBNP possono essere utili anche per discriminare una patologia cardiaca da una polmonare primaria; infatti le concentrazioni

in animali affetti da patologia cardiaca sono maggiori rispetto ai pazienti con patologia polmonare.

In uno studio del 2009 (Takemura et al., 2009) si è cercato di valutare il variare delle concentrazioni di NT-proBNP in pazienti con insufficienza mitralica. Gli animali sono stati sottoposti all'iter diagnostico del caso e sono stati classificati nelle varie classi ISACHC (International small animal cardiac health council). Questo tipo di classificazione delle cardiopatie prevede una suddivisione in gradi: Ia - Ib paziente asintomatico, che non manifesta nessun segno clinico di insufficienza cardiaca, nel Ib, a differenza che nel Ia, sono presenti segni di compensazione; II paziente con cardiopatia da lieve a moderata, l'animale manifesta segni di insufficienza cardiaca quali: tosse, tachipnea, dispnea, intolleranza all'esercizio fisico, ascite; IIIa – IIIb paziente con cardiopatia grave, i segni di insufficienza cardiaca sono evidenti anche a riposo, e nel caso del grado IIIb si rende necessario il ricovero del paziente.

Nello studio condotto nel 2009, si è potuto rilevare che nei pazienti con patologia lieve (classe Ia) non è presente un'alterazione nella concentrazione del NT-proBNP mentre nei pazienti appartenenti alla terza classe la concentrazione dell'ormone nel sangue si innalza in modo significativo. Anche la correlazione tra le immagini diagnostiche rilevate e la concentrazione nel plasma è da associarsi alla gravità della patologia. Le alterazioni che possono essere ritenute utili come fattore prognostico nell'insufficienza mitralica si verificano a partire dalla classe ISACHC II.

2.2.2 Endotelina

E' un peptide vasoattivo, che non viene stoccato nei compartimenti cellulari, comprendente ET-1, ET-2, ET-3, ET-4 derivante da precursori definiti come pre-proET i quali vengono sottoposti ad un clivaggio intermedio da parte delle endopeptidasi, si forma così la ET grande che viene convertita in ET attiva dall'enzima di conversione dell'endotelina; le cellule endoteliali ed i cardiomiociti producono principalmente ET-1, un potentissimo e duraturo vasocostrittore con ampio spettro di azione biologica mediata da tre sottotipi di recettori ET_A , ET_B , ET_C , dove ET_A è selettivo per ET-1.

La secrezione delle ET è controllata a livello di espressione genica e sintesi peptidica ed entro pochi minuti dall'attivazione del sistema viene sintetizzata ET-1 in risposta a piccoli strappi, stiramento pulsatile, ipossia, o secrezione di angiotensina II, adrenalina, citochine e fattori della crescita. L' ET presente a livello del tessuto vascolare è superiore di circa 100 volte rispetto a quella plasmatica, che attualmente viene analizzata mediante RIA o ELISA.

La maggior parte dell' ET-1 è rilasciata in direzione contraria rispetto al lume vasale dove agisce sulle cellule muscolari lisce ed endoteliali con la funzione di mediatore autocrino e paracrino.

Poiché l'ET-1 è rapidamente eliminata dalla circolazione sembra preferibile valutare la concentrazione plasmatica dell' ET-1 grande dato che la sua rimozione dal circolo è lenta e poco variabile.

I dosaggi disponibili per l'ET-1 non sono ancora standardizzati, la sua concentrazione media plasmatica corrisponde a $2,07 \pm 0,15$ pg/mL e $0,805 \pm 0,230$ fmol/mL; nel cane l'immunoreattività plasmatica di ET può venire classificata come 60% ET-1 grande, 30% ET-1 e infine 10% ET-3; inoltre tenendo presente la marcata reattività crociata degli anticorpi anti-ET che vengono usati per i dosaggi è più corretto parlare di immunoreattività ET-simile piuttosto che di concentrazioni.

2.3 ALTRI MARKER DELLA FUNZIONE CARDIOVASCOLARE

Altri marker che possono risultare utili per lo screening cardiologico sono il TNF- α , l'ossido nitrico e l'adrenomedollina.

La citochina pro infiammatoria TNF- α è prodotta dai macrofagi attivati ma anche nel tessuto cardiaco insufficiente e da questo si deduce il suo coinvolgimento nell' insufficienza cardiaca congestizia dove può essere utilizzata come marker di progressione della malattia in quanto la sua bioattività e l'attività dei suoi recettori solubili nel siero aumentano con l'aggravarsi della patologia.

Sembra che il TNF- α abbia anche un ruolo nell'apoptosi, nella perdita cellulare e nella fibrosi miocardica con rimodellamento ventricolare, si associa al progredire dell'insufficienza cardiaca.

L'ossido nitrico, denominato anche fattore di rilassamento derivato dall'endotelio, è un antagonista funzionale dell'ET e dell'angiotensina II, ed è espresso a livello vascolare e a livello miocardico, possiede delle funzioni che regolano il sistema cardiovascolare. In caso di insufficienza cardiaca viene ridotto il suo rilascio endoteliale mentre al contrario la sintesi miocardica aumenta e questo comporta minor vasodilatazione, un effetto inotropo e cronotropo negativi e perdita delle cellule del muscolo cardiaco. Per determinare il suo ruolo come marker circolante nei pazienti canini è ancora, tuttavia, necessario effettuare degli opportuni studi prospettici.

L'adrenomidollina ha un effetto vasodilatatore nonché natriuretico ed anch'essa manifesta un aumento della sua concentrazione plasmatica in corso di insufficienza cardiaca; la sua funzione come marker è ancora da valutare ma sembra possa essere utilizzata per lo screening dell'ipertensione polmonare, data la sua correlazione con la pressione di incuneamento polmonare e dell'arteria polmonare nei pazienti con insufficienza cardiaca congestizia.

È possibile utilizzare anche un'altra classificazione dei biomarker di interesse clinico nell'insufficienza cardiaca secondo le seguenti categorie: marker di danno miocitico, marker di stress miocitico, marker di rimodellamento, marker di disfunzione endoteliale, marker di infiammazione, marker neuro ormonali (Boswood, 2009).

I marker di danno miocitico utilizzati negli animali sono le troponine che fisiologicamente sono presenti in concentrazioni molto basse e una loro alterazione indica con elevata sensibilità e specificità la presenza di un danno miocardico.

I marker di stress miocitico sono i peptidi natriuretici ma anche l'adrenomidollina e l'interleuchina nello specifico la forma solubile dell' ST2 un membro della famiglia del recettore dell'interleuchina la cui concentrazione aumenta con l'aumentare della classe di insufficienza cardiaca.

I marker di rimodellamento sono le metallo proteinasi MMPs, enzimi proteolitici che giocano un ruolo fondamentale a livello di matrice extracellulare miocardica e sembra,

quindi, che possano fornire informazioni sul rimodellamento del ventricolo. Il problema nel loro utilizzo nasce dal fatto che non sono marker specifici di danno cardiaco; i risultati dei primi studi condotti su queste sostanze non sono incoraggiati per un loro utilizzo futuro.

I marker di disfunzione endoteliale possono essere valutati in modo non invasivo attraverso la vasodilatazione flusso mediata, i più utilizzati sono le P-selectine, e la proteina C reattiva. E' stato riscontrato in vari studi il loro aumento in pazienti a rischio a causa di patologie cardiovascolari ma vi sono anche risultati controversi per quanto riguarda l'ossido nitrico che in alcuni cani con patologia mitralica sembra diminuire e per quanto riguarda la dimetilarginina .

I marker di infiammazione circolanti sono molti e generalmente poco specifici ed includono l'aumento della produzione di citochine da parte del miocardio in risposta a stimoli cronici, infiammazione e necrosi dei tessuti.

I marker neuro ormonali più conosciuti e ritenuti più validi sono i peptidi natriuretici, ma sono presenti anche altri tipi come l'ET-1 che viene valutata nella forma non ancora convertita, ossia ETgrande.

Sicuramente verranno effettuati ulteriori approfondimenti volti alla ricerca di biomarker ideali per poterli utilizzare come fattore prognostico nonché diagnostico per quel che riguarda le patologie cardiache, verranno approfonditi gli studi e saranno intraprese nuove vie con lo scopo di inserire le valutazioni dei biomarker nell'iter diagnostico di routine.

CAPITOLO 3

RDW E MALATTIE CARDIACHE NELL'UOMO

Il Red cell distribution width (RDW) è un indice eritrocitario che viene calcolato dagli apparecchi conta globuli attualmente utilizzati e costituisce una componente dell' esame emocromocitometrico. Esso misura l'ampiezza della distribuzione volumetrica dei globuli rossi; e permette quindi di valutare la distribuzione delle loro dimensioni.

L' RDW fornisce, quindi, un dato relativo all'anisocitosi eritrocitaria che può essere rappresentato attraverso l'utilizzo di una curva gaussiana, di cui l'RDW è la base. Un aumento dell' RDW indica la presenza di eritrociti con diametro molto diverso fra loro, viceversa, una diminuzione indica un diametro eritrocitario molto simile.

L'anisocitosi è, quindi, la contemporanea presenza di cellule di grandi e piccole dimensioni le cui cause possono essere: le anemie rigenerative, sia emolitiche (rottura dei globuli rossi a livello intravasale od extravasale) che emorragiche (emorragia esterna od interna, acuta o cronica) (Hodges G., Christopher M.M., 2011) e tutte le malattie associate a macrocitosi e microcitosi.

Fra le cause di macrocitosi, nel cane, si annoverano: la chemioterapia che agisce direttamente con la somministrazione di sostanze antitumorali e indirettamente antagonizzando i folati, le sindromi mielodisplastiche che nel cane possono essere legate a malattie trasmesse da zecche, la macrocitosi del Barboncino toy che manifesta modificazioni displastiche eritroidi, il malassorbimento con conseguente carenza di vitamina B12 e acido folico, necessari per permettere la duplicazione cellulare.

Fra le cause di microcitosi, nel cane, si annoverano: la carenza o il sequestro del ferro che comporta la mancata produzione di emoglobina, con conseguente mancanza del

segnale di emoglobinizzazione citoplasmatica senza il quale non si blocca la divisione cellulare e non viene estruso il nucleo; le epatopatie (tra le quali lo shunt porto-sistemico) , le mielodisplasie che comportano la produzione di globuli rossi piccoli e malformati, le alterazioni elettrolitiche e la microcitosi di razza come nell' Akita Inu (Villiers E., Blackwood L., 2006).

Questo indice viene normalmente utilizzato nella diagnosi differenziale dell'anemia (Neiger R. et al., 2002), che corrisponde ad un calo degli eritrociti presenti in circolo o ad un maggiore volume plasmatico, ad un calo dell'emoglobina o dell'ematocrito. Valori elevati suggeriscono la produzione di globuli rossi immaturi da parte del midollo osseo, carenze di vitamina B12 o folati, carenza di ferro (Allen L.A. et al., 2010).

In medicina umana recentemente è stato evidenziato come un aumento dell' RDW sia fortemente correlato ad un maggiore tasso di mortalità in pazienti con un' insufficienza cardiaca cronica (Felker et al., 2007); e proprio in questo campo negli ultimi anni, si è iniziato a cercare nuovi marker di laboratorio allo scopo di identificare più rapidamente pazienti con insufficienza cardiaca cronica.

In uno studio pubblicato nel 2007 (Felker et al., 2007); il cui scopo è stato quello di ricercare tra 36 parametri di laboratorio quello maggiormente legato all'aumento della mortalità in pazienti con insufficienza cardiaca, è stato messo in evidenza come in 2.679 pazienti con insufficienza cardiaca cronica sintomatica registrati all'interno del programma CHARM (Candesartan in heart failure: assessment of reduction in mortality and morbidity) e in 2.140 pazienti registrati all'interno dell' archivio della Duke Databank, l'aumento dell'RDW sia il fattore maggiormente correlato ad un aumento della mortalità. L'RDW in questo studio è risultato fortemente correlato alla frazione di eiezione cardiaca, alla funzione renale e alla classe di gravità dell'insufficienza cardiaca secondo la classificazione NYHA (New York Heart Association), tale classificazione comprende quattro stadi di gravità, da asintomatica, a lieve, a moderata, a grave.

Tuttavia nel periodo in cui è stato condotto lo studio rimaneva sconosciuta la causa che lega l'innalzamento dell' RDW con l'insufficienza cardiaca congestizia.

Successivamente, appurata l'importanza dell' RDW come marker di prognosi, nel 2009 è stato pubblicato uno studio dove si è cercato di comparare tale parametro con l' NT-proBNP in pazienti con patologia cardiaca (Al-Najjar et al., 2009) ; questo perché, come già noto, i peptidi natriuretici sono prodotti a livello cardiaco ed un loro innalzamento il circolo è legato ad un aumento del volume vascolare e ad un calo della clearance renale per questo motivo sono ritenuti degli importanti marker funzionali in caso di danno cardiaco. Da Marzo 2001 ad Aprile 2008 sono stati presi in considerazione pazienti con sospetta patologia cardiaca, aventi esami del sangue completi, misurazione del NT-proBNP eseguita entro 2 settimane dall'esame ECG, e una alterata funzione sistolica del ventricolo sinistro valutata attraverso l' esame ecocardiografico. Sono stati, quindi, inclusi 1087 pazienti di cui il 74% erano uomini con età media di 71,9 anni, l' 83% rientranti nella II e III classe dell' NYHA. I risultati hanno dimostrato che i due parametri sono indipendenti l'uno dall'altro ma che presentano un valore predittivo simile nonchè efficace, nei pazienti con patologie cardiache; per questo motivo, come riportano gli autori dell'articolo, si auspica che in futuro entrambi questi valori siano utilizzati di routine nello screening cardiologico.

Nello stesso anno, è stato pubblicato un altro articolo tratto da uno studio il cui scopo era quello di comparare l' RDW di pazienti con patologia cardiaca, con i parametri ecocardiografici degli stessi (Oh et al., 2009). Per questo motivo sono stati presi in considerazione i dati di 100 pazienti con insufficienza cardiaca acuta visitati in pronto soccorso tra Settembre 2006 e Agosto 2007 e sono stati analizzati i dati relativi a : RDW, NT-proBNP e parametri ecocardiografici. L'esito dello studio ha evidenziato una relazione tra l' aumento del valore dell' RDW ed un elevato rapporto E/E', vale a dire il rapporto tra la velocità dell'onda protodiastolica del flusso trans-mitralico misurata con Doppler spettrale e la velocità del movimento dell'anulus mitralico misurato con Doppler tissutale, che risulta essere suggestivo di una aumentata pressione di riempimento ventricolare sinistro nei pazienti con insufficienza cardiaca acuta; la stessa relazione è stata riscontrata tra l' NT-proBNP e l'aumento del rapporto E/E'. Inoltre, sempre grazie a questo studio, si è potuto rilevare che l' RDW risulta avere una correlazione anche con le dimensioni dell'atrio sinistro e la velocità dell'onda E del flusso trans-mitralico.

E' stata inoltre descritta la relazione tra l'RDW e: gli stati infiammatori, le patologie infettive legate all'eritropoiesi, il danno renale e lo stato di nutrizione (Förhècz et al., 2009). Sono stati esaminati un totale di 195 pazienti, tra Febbraio 2005 e Luglio 2006. Anche questo studio concorda con i precedenti sull'enorme importanza dell'RDW in quanto efficace ed indipendente fattore predittivo degli eventi clinici nei pazienti con insufficienza cardiaca, così come per l' NT-proBNP. Secondo gli autori l'RDW è legato, inoltre, alla carenza di ferro sierico e di ferritina e al calo del livello di saturazione della transferrina; esso è quindi segno di anemia dovuta ad una carenza di ferro nei pazienti con insufficienza cardiaca. Si è visto poi che i differenti marker di infiammazione, come le citochine, sono associati ai valori dell'RDW; infatti le reazioni infiammatorie che si verificano in risposta a situazioni in cui vi è una alterazione meccanica del circolo comportano l'inibizione della maturazione eritrocitaria e questo si riflette chiaramente sull'indice di anisocitosi. A tal proposito ulteriori studi hanno cercato di valutare in particolare l'RDW come marker per le patologie infiammatorie dell'intestino (Clarke et al., 2008), tenendo presente che alterazioni dell' RDW, e comunque dei parametri eritrocitari in generale, possono essere legate a perdite di sangue che, proprio a livello intestinale, si possono presentare con una certa frequenza. Lo studio che è stato condotto ha preso in considerazione due gruppi di pazienti che presentavano gli uni la malattia di Crohn e gli altri la colite ulcerativa. Lo studio ha evidenziato delle differenze statistiche tra i due gruppi, ma queste non sono state ritenute significative da un punto di vista clinico.

Il fatto che l'RDW sia legato ai meccanismi dell'infiammazione e della malnutrizione e ad alterazioni dell'apparato urinario, ad ogni modo, permette di comprendere in parte il suo legame con una eventuale prognosi infausta nell'insufficienza cardiaca.

Alla luce dell'importanza dell'RDW come, marker di prognosi nell'insufficienza cardiaca, alcuni studi hanno cercato di capire il suo legame anche con situazioni che in generale hanno comportato la morte di pazienti, e con patologie delle coronarie (Tonelli et al., 2008) e con ipertensione polmonare (Hampole et al., 2009).

Nel primo studio, dove sono stati valutati 4111 pazienti con un infarto del miocardio ma senza insufficienza cardiaca. In tali soggetti è stato dimostrato che esiste una associazione tra il valore dell'RDW e: il rischio di morte dovuto a qualsiasi causa, la

possibilità di sviluppare ex novo insufficienza cardiaca o patologie a carico delle coronarie.

Inoltre da questo studio è emerso che livelli elevati, ma comunque all'interno del range della normalità, di RDW indicano una più rapida distruzione degli eritrociti o più facilmente una eritropoiesi deficitaria.

Nel secondo studio, nel quale sono stati presi in considerazione 162 pazienti registrati nel Pulmonary Hypertensions Connection (PHC), l'RDW è risultato associato alla mortalità dei pazienti con ipertensione polmonare in misura maggiore rispetto all' NT-proBNP, ed inoltre l' RDW è risultato significativamente più alto nei pazienti con alterazioni emodinamiche causate da ipertensione polmonari rispetto agli altri.

L'aumento dell'RDW è da sempre associata ad una alterata produzione di eritrociti o ad emolisi, ma questi recenti studi condotti nel campo della medicina umana hanno permesso di associarlo anche ad alterazioni cardiache e non solo.

Sicuramente vi saranno degli ulteriori approfondimenti volti ad utilizzare sempre più l' RDW nei test di screening diagnostico.

CAPITOLO 4

CONTRIBUTO SPERIMENTALE

Le malattie cardiache nel cane sono eventi piuttosto frequenti, la degenerazione mixomatosa e fibrosa dei lembi della valvola mitralica è da ritenersi la causa più comune di insufficienza cardiaca nel cane.

Nel campo della medicina umana è stato evidenziato come un aumento dell' RDW sia fortemente correlato ad un maggiore tasso di mortalità in pazienti con un' insufficienza cardiaca cronica (Felker et al., 2007); da questa osservazione è nato l'interesse di verificare se la stessa correlazione sia presente anche nel campo veterinario, nello specifico nel cane.

Lo scopo di questo lavoro è stato quindi quello di valutare il ruolo dell'RDW in cani con MDCV e di confrontare questo parametro con altri parametri laboratoristici e ecocardiografici associati a MDCV a diversi stadi di gravità.

4.1 MATERIALI E METODI

4.1.1 Animali

In questo studio, sono state valutate retrospettivamente le cartelle cliniche di cani visitati nel periodo Settembre 2006 e Giugno 2011, presso l'Ospedale Didattico Veterinario dell'Università degli Studi di Teramo e di Padova, selezionando quelle di soggetti in cui fossero disponibili dati clinici, compresa la diagnosi definitiva, e un profilo emato-biochimico completo.

4.1.2 Valutazioni cardiologiche

Per lo studio sono stati selezionati sia cani con MDCV, sia animali con altre patologie ma esenti da MDCV, sia un gruppo di cani sani utilizzati come gruppo di controllo. La diagnosi di MDCV è stata fatta basandosi sulla presenza di un soffio protosistolico sul lato sinistro del torace durante la visita clinica e sui reperti ecocardiografici; il tutto è stato preceduto dall'esame obiettivo generale e dall'esame obiettivo particolare dell'apparato cardiocircolatorio. Per quanto riguarda il gruppo di animali con altre patologie l'esame si è limitato ad un controllo dell'apparato cardiocircolatorio attraverso l'esame obiettivo particolare ma non sono stati effettuati rilievi ecocardiografici. Gli esami ecocardiografici, effettuati sul gruppo di animali sani e sul gruppo di animali con MDCV, sono stati condotti in ogni centro dallo stesso operatore esperto con ecografo Zone Ultra (Zonare, Mountain View, CA). Sono state utilizzate le proiezioni ecocardiografiche standard, ossia le finestre parasternali destra e sinistra. Le misurazioni del ventricolo sinistro sono state ottenute in M-mode attraverso la scansione parasternale destra con immagini monodimensionali ricavate dalla guida bidimensionale. Le misurazioni dell'atrio sinistro e il diametro dell'aorta sono state ottenute con modalità 2-D attraverso la scansione parasternale destra. Il Doppler spettrale è stato utilizzato per valutare il flusso mitralico nella proiezione sinistra apicale quattro camere. Le dimensioni del ventricolo sinistro durante la diastole (LVDd), del ventricolo sinistro durante la sistole (LVDs), dell'atrio sinistro (LA), dell'aorta (Ao) e la

massima velocità dell'onda E (picco protodiastolico) sono i parametri che sono stati presi in considerazione per lo studio; in particolare sono stati calcolati alcuni indici di gravità della malattia degenerativa valvolare quali il rapporto LVDd: Ao, LVDs: Ao, la frazione di accorciamento (FS) (ossia il diametro telediastolico meno il diametro telesistolico del ventricolo sinistro il tutto diviso per il diametro telediastolico ed è un valore espresso in percentuale), e il rapporto LA: Ao, impiegati per successive valutazioni statistiche.

Sulla base della classificazione ISACHC, i cani con MDCV sono stati a loro volta suddivisi in 2 gruppi: cani con insufficienza cardiaca compensata (classi ISACHC Ia e Ib) e cani con insufficienza cardiaca scompensata (classi ISACHC II, IIIa e IIIb).

4.1.3 Valutazioni laboratoristiche

Le analisi ematobiochimiche in entrambe le strutture sono state sempre eseguite entro le 24 ore dal momento del prelievo del sangue; per l'esame emocromocitometrico è stato utilizzato il sistema ematologico ADVIA 120 (ADVIA 120, Bayer Diagnostic, Dublino, Irlanda; ADVIA 120, Hematology system, Siemens, Monaco, Germania); per l'esame biochimico sono stati utilizzati i sistemi BT 1500 (Biotecnica, Roma, Italia) e AU 400 TM (Mishima Olympus, Shizuoka, Giappone). Gli intervalli di riferimento di normalità utilizzati sono stati: per quanto riguarda l'RDW, 11,9-14,5%; per l'ematocrito, 37-57%; per la creatinina, 0,5-1,5 mg/dL; per l'urea, 20-50 mg/dL. Di conseguenza, gli animali sono stati classificati come anemici quando il loro ematocrito era $\leq 36\%$, azotemici quando la concentrazione di creatinina sierica risultava $>1,5\text{mg/dL}$ e/o la concentrazione dell'urea sierica risultava $>50\text{mg/dL}$.

4.1.4 Analisi statistica

I dati sono stati analizzati attraverso l'utilizzo del test di Kolmogorov-Smirnov, un test non parametrico che verifica la forma delle distribuzioni campionarie. I dati normalmente distribuiti sono stati riportati come media \pm deviazione standard (DS),

mentre i dati che non risultavano normalmente distribuiti sono stati riportati come mediana e range.

Il test ANOVA è stato utilizzato per analizzare le variabili numeriche continue distribuite normalmente (ematocrito, volume corpuscolare medio, LVDd/Ao e FS) e il test del chi-quadro per la comparazione dei dati categorici. Per quanto riguarda i dati non normalmente distribuiti (età, peso, emoglobina, RDW, urea sierica, creatinina, proteine totali, LVDs/Ao, LA/Ao, onda E) sono stati utilizzati il test non parametrico di Kruskal-Wallis per le comparazioni tra i diversi gruppi, seguito dal test non parametrico di Mann-Whitney utilizzato per verificare se due campioni statistici provenivano dalla stessa popolazione.

Il test di Spearman con il valore di rho è stato utilizzato per valutare il grado di associazione tra il valore di RDW e le altre variabili incluse nello studio: età, peso corporeo, parametri ematobiochimici, indici ecocardiografici e eco-Doppler.

Nei cani con MDCV e in quelli con altre patologie l'odds ratio (OR) è stato calcolato al fine di valutare la prevalenza di anemia, di azotemia, di valori di RDW al di sopra dell'intervallo di riferimento, oltre al tipo di azotemia (pre-renale o renale). Nei cani anemici appartenenti a questi due gruppi, è stata inoltre comparata la prevalenza di anemia lieve rispetto a anemia moderata-grave.

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite con l'utilizzo di un pacchetto software statistico SPSS 15.0 (for Windows, SPSS Inc, Chicago, IL) il livello minimo di significatività scelto è stato $P < 0,05$.

4.2 RISULTATI

4.2.1 Dati sugli animali presi in esame

In questo studio sono stati inclusi 294 cani, di cui 164 maschi e 130 femmine, di razze differenti; di questi, 25 cani sani sono stati utilizzati come gruppo di controllo, 139 presentavano MDCV e 130 presentavano altre patologie ma sono stati giudicati esenti da MDCV.

La tabella numero 1 descrive i dati demografici dei 294 cani utilizzati in questo studio; da questa tabella si evince che i cani con MDCV sono risultati i più anziani (11,0, 3,0-17,0 anni, $P < 0,001$) rispetto al gruppo di controllo e al gruppo di cani con altre patologie, ma, allo stesso tempo, sono risultati anche essere quelli con un peso corporeo inferiore (10,0, 1,8-56,0 Kg, $P < 0,001$). Dei 139 cani con MDCV la maggior parte di questi erano meticci ($n = 69$ cani), seguiti da cani di razza quali Bassotto e Yorkshire terrier ($n = 7$), Cavalier king Charles spaniel ($n = 6$), Pastore Tedesco, Pinscher, Barboncino nano ($n = 5$), Setter inglese e Segugio ($n = 4$).

Di questi cani presi in esame il 65,5% ($n = 91/139$) presentava un' insufficienza cardiaca compensata, mentre il 34,5% ($n = 48/139$) un' insufficienza cardiaca non compensata. Come è possibile vedere dalla tabella 2 alcuni cani con MDCV presentavano anche altre patologie, tra le quali in prevalenza: patologie dell'apparato urinario 22,3% ($n = 31/139$) e patologie respiratorie 18% ($n = 25/139$); nel gruppo di cani con altre patologie esenti da MDCV erano invece presenti soprattutto: disordini endocrini 21,5% ($n = 28/130$), neoplasie 20% ($26/130$), infezioni e patologie infiammatorie 14,6% ($n = 19/130$).

4.2.2 Parametri ematobiochimici ed ecocardiografici

Grazie all'analisi degli esami di laboratorio è emerso che l'anemia si manifestava con una prevalenza significativamente maggiore nel gruppo di cani con altre patologie ($n = 32/130$, 24,6%), piuttosto che nel gruppo di cani con MDCV ($n = 12/139$, 8,6%) (OR 3,4; 95% CI 1,7-7,0; $P = 0,00073$); inoltre l'anemia nel gruppo di cani con altre patologie era presente a diversi stadi di gravità (questa infatti variava da lieve a moderato-grave) e in prevalenza si trattava di una anemia rigenerativa; mentre nel gruppo di cani con MDCV si manifestava solamente in forma lieve.

Il valore dell' azotemia non è risultato significativamente differente nel confronto tra il gruppo dei cani con MDCV ($n = 34/139$, 24,5%) rispetto al gruppo di cani con altre patologie senza MDCV ($n = 36/130$, 27,7%) (OR 0,85; 95% CI 0,47-1,61; $P = 0,6$), a differenza di quanto è emerso dalla valutazione dell' azotemia pre-renale che è risultata maggiormente presente nei cani con MDCV ($n = 23/34$, 67,6%) rispetto al gruppo di

cani con altre patologie senza MDCV (n = 12/36, 33,3%) (OR 4,18; 95% CI 1,8-12,95; P = 0,008). Infine non sono state messe in evidenza differenze significative relative alla presenza di anemia associata ad azotemia nel gruppo di cani con MDCV (n = 4/12, 33,3%) rispetto al gruppo di cani con altre patologie senza MDCV (n = 14/32, 43,8%) (OR 0,64; 95% CI 0,13-3,09; P = 0,77). Questi dati indicavano quindi il legame dell'RDW con l'anemia, come già noto, ma non con la presenza di MDCV dal momento che la maggior parte dei cani con questa patologia non presentava azotemia renale e di conseguenza anemia, se non lieve.

Nella tabella numero 3 vengono rappresentati i risultati degli esami ematobiochimici nei diversi gruppi di cani che sono stati valutati in questo studio, mentre nella tabella numero 4 vengono riportati i valori dei parametri ecocardiografici misurati nel gruppo di cani di controllo e in quello dei cani con MDCV.

Da queste tabelle si evince che la media \pm DS dell'ematocrito dei cani con MDCV e insufficienza cardiaca compensata (45,1% \pm 6,7%) è risultata essere significativamente più bassa rispetto a quella del gruppo di cani utilizzati come controllo (49,4% \pm 4,0%, P < 0,01), mentre l'ematocrito (41,4% \pm 10,0%) e la concentrazione emoglobinica media (15,0 gr/dL, 2,5-21,1 gr/dL) del gruppo di cani con altre patologie senza MDCV è risultata essere significativamente più bassa rispetto a quella degli altri due gruppi (rispettivamente P < 0,01 e 0,05).

Inoltre la mediana della concentrazione dell'urea sierica nei cani affetti da MDCV unitamente ad insufficienza cardiaca scompensata (37,6 mg/dL, 8,9-139,0 mg/dL) e nei cani con altre patologie senza MDCV (34,0 mg/dL, 8,0- 383,0 mg/dL) è risultata significativamente più elevata sia rispetto ai cani del gruppo di controllo (20,1 mg/dL 10,3-47,0 mg/dL, P \leq 0,001) sia rispetto ai cani con MDCV e insufficienza cardiaca compensata (25,5 mg/dL, 4,6-225,7 mg/dL, P < 0,001).

Nello studio è stata valutata anche la mediana della concentrazione sierica della creatinina nei cani con MDCV e insufficienza cardiaca scompensata (1,05 mg/dL, 0,49-3,86 mg/dL) e questa è risultata significativamente più elevata rispetto al gruppo di animali con insufficienza cardiaca compensata (0,94 mg/dL, 0,47-5,55 mg/dL, P < 0,05). Inoltre la concentrazione sierica delle proteine dei cani con MDCV e insufficienza cardiaca scompensata (62,5 gr/L, 36,0-75,0 gr/L) è risultata significativamente più bassa rispetto al gruppo dei casi di controllo (67,0 g/L, 57,0-74,0 g/L, P < 0,05) e al gruppo dei

cani con MDCV e insufficienza cardiaca scompensata (65,0 g/L, 35,0-85,0 g/L, $P < 0,05$).

In entrambi i sottogruppi dei cani con MDCV (con insufficienza cardiaca compensata e scompensata) sono risultati significativamente elevati sia LVDd: Ao ($P < 0,001$), sia LVDs: Ao ($P < 0,001$), sia LA: Ao ($P < 0,001$), che la FS ($P \leq 0,001$) rispetto al gruppo di cani sani; è stato inoltre evidenziato che la velocità massima dell'onda E era significativamente più alta nei cani con MDCV con insufficienza cardiaca scompensata ($P < 0,001$) rispetto al gruppo di cani controllo e a quelli con MDCV con insufficienza cardiaca compensata.

Nel gruppo di cani con MDCV con insufficienza cardiaca scompensata i rapporti: LVDd: Ao ($P < 0,001$), LVDs: Ao ($P < 0,001$), LA: Ao ($P < 0,001$) sono risultati significativamente più alti rispetto a quelli con MDCV con insufficienza cardiaca compensata.

4.2.3 Valori dell'RDW

Per quanto riguarda le differenze riscontrate nella valutazione dell' RDW nei vari gruppi di cani presi in esame in questo lavoro, si è evinto che questo parametro negli animali sani mediamente corrispondeva a 12,9% (11,8-14,5%); mentre la mediana del valore dell'RDW nei cani con MDCV corrispondeva al 13,0% (11,0-18,4%), di cui 15 cani (10,8%) presentavano un valore di RDW superiore al limite massimo di 14,6%. La mediana dell'RDW in cani con altre patologie corrispondeva a 13,3% (11,0-22,6%), di cui 27 cani (20,8%) presentavano un valore di RDW superiore al limite massimo. La mediana dell' RDW nel gruppo di cani con altre patologie è risultata significativamente elevata se confrontata con quello del gruppo di cani controllo ($P = 0,029$). Non sono state registrate differenze statisticamente significative nel valore dell'RDW tra i cani con MDCV con il gruppo di cani sani ($P = 0,205$) e con il gruppo di cani con altre patologie ($P = 0,064$). Il valore di RDW che è stato rilevato nei cani con MDCV e insufficienza cardiaca compensata corrispondeva a 12,9% (11,0-18,4%) mentre nei cani con insufficienza cardiaca scompensata corrispondeva a 13,1% (11,3-15,8%); quindi non sono state rilevate differenze significative tra i valori di RDW nei cani con insufficienza

cardiaca compensata e con insufficienza cardiaca scompensata ($P = 0,823$). Nemmeno il suo successivo confronto tra i due sottogruppi dei cani con MDCV, ossia cani con insufficienza cardiaca compensata e scompensata con il gruppo di controllo (rispettivamente $P = 0,267$ e $P = 0,193$) e con il gruppo di cani con altre patologie (rispettivamente $P = 0,078$ e $P = 0,242$) è risultato statisticamente significativo.

Nella tabella numero 5 sono state riportate le correlazioni tra l'RDW con i dati demografici, i valori di laboratorio e i parametri ecocardiografici dei cani presi in esame. L' RDW è risultato significativamente ma debolmente e negativamente correlato con l'ematocrito (coefficiente di correlazione = $0,278$, $P < 0,001$) e con la concentrazione dell'emoglobina (coefficiente di correlazione = $0,280$, $P < 0,001$), e correlato in modo significativo ma debolmente e positivamente con la concentrazione sierica dell'urea (coefficiente di correlazione = $0,137$, $P = 0,019$). Invece non è stata trovata alcuna correlazione tra l'RDW e gli altri parametri di laboratorio, nonché con i dati demografici. La correlazione tra l'RDW e il rapporto LA:Ao è risultata ai limiti della significatività (coefficiente di correlazione = $0,153$, $P = 0,051$), ma, ad ogni modo, non è stata trovata alcuna correlazione tra l'RDW e gli altri parametri ecocardiografici considerati.

Tabella 1. Dati demografici dei 294 cani utilizzati nello studio.				
Variabili	Controlli	MDCV	Altre patologie	P-value
N. dei cani	25	139	130	
Età (anni)	6,0 (2,0-14,0)	11,0 (3,0-17,0)*,§	8,0 (1,0-17,0)	<0,001
Peso corporeo (kg)	18,0 (5,0-48,0)	10,0 (1,8-56,0)*,§	18,0 (1,6-56,0)	<0,001
Sesso (maschio/femmina)	11/14	77/62	76/54	0,382
Razza (N. di cani)	Meticci (8)	Meticci (69)	Meticci (59)	
	Pastore Tedesco (3)	Bassotto, Yorkshire terrier (7)	Pastore Tedesco (13)	
	Boxer, Pinscher (2)	CKCS (6)	Barboncino (5)	
	Altre razze (12)	Pastore Tedesco, Pinscher, Barboncino (5)	Bassotto, Pinscher, Rottweiler (4)	
		Segugio Italiano, Setter Inglese (4)	Boxer, Epagneul Breton, Labrador, Pointer, Setter Inglese, Yorkshire terrier (3)	
		Pechinese (3)	American Staffordshire terrier, Beagle, Pitt Bull, Segugio Italiano, Siberian Husky (2)	
		Dalmata, Epagneul Breton, Greyhound, Labrador, Maltese WHWT (2)	Altre razze (22)	
		Altre razze (12)		
I dati sono espresso come mediana (range).				
* P < 0,001 rispetto ai cani di controllo.				
§ P < 0,001 rispetto ai cani con altre patologie.				
MDCV: malattia degenerativa cronica valvolare; CKCS: Cavalier King Charles Spaniel; WHWT: West Highland White Terrier.				

Tabella 2. Prevalenza di altre patologie nel gruppo di cani con MDCV e nel gruppo di cani con altre patologie senza MDCV		
Tipo di patologia	Cani con MDCV	Cani con altre patologie senza MDCV
Patologie apparato urinario	31/139 (22,3%)	8/130 (6,2%)
Patologie apparato respiratorio	25/139 (18%)	NP
Neoplasie	8/139 (5,8%)	26/130 (20%)
Patologie apparato gastroenterico e fegato	3/139 (2,2%)	11/130 (8,5%)
Patologie apparato genitale	2/139 (1,4%)	8/130 (6,2%)
Disordini endocrini	1/139 (0,7%)	28/130 (21,5%)
Infezioni ed infiammazioni	NP	19/130 (14,6%)
Alterazioni emopoietiche	NP	8/130 (6,2%)
Patologie tossicologiche	NP	6/130 (4,6%)
Patologie dermatologiche	NP	4/130 (3,1%)
MDCV: malattia degenerativa valvolare cronica; NP: non presente.		

Tabella 3. Dati ematobiochimici dei 25 cani di controllo, 139 cani con malattia degenerativa cronica valvolare (MDCV) e 130 cani con altre patologie senza MDCV

Variabili	Controlli (n=25)	MDCV		Altre patologie (n=130)	P-value
		ICc (n=91)	ICs (n=48)		
Emogramma					
Hct (%)	49 ± 4	45,1 ± 6.7**	47,4 ± 7.5	41,4 ± 10,0**,§§,##	<0,001
Hb (g/dl)	16,5 (12,7-18,9)	15,7 (6,3-20,6)	17,0 (11,8-21,8)	15,0 (2,5-21,1)*,§,#	<0,001
RDW (%)	12,9 (11,8-14,5)	12,9 (11,0-18,4)	13,1 (11,3-15,8)	13,3 (11,0-22,6)*	0,085
MCV (fl)	68,5 ± 2,2	68,1 ± 4,0	67,8 ± 3,0	67,9 ± 5,7	0,935
Biochimico					
Urea (mg/dl)	20,1 (10,3-47,0)	25,5 (4,6-225,7)	37,6 (8,9-139,0)***,§§§	34,0 (8,0-383,0)***,§§§	<0,001
Creatinina (mg/dl)	0,96 (0,45-1,40)	0,94 (0,47-5,55)	1,05 (0,49-3,86)§	0,95 (0,28-8,18)	0,130
Proteine (g/L)	67,0 (57,0-74,0)	65,0 (35,0-85,0)	62,5 (36,0-75,0)*,§	65,0 (27,0-93,0)	0,088
I dati normalmente distribuiti sono espressi come media ± deviazione standard, i dati non normalmente distribuiti sono espressi come mediana (range)					
* $P < 0,05$ rispetto ai cani controllo.					
** $P < 0,01$ rispetto ai cani controllo.					
*** $P \leq 0,001$ rispetto ai cani controllo.					
§ $P < 0,05$ rispetto ai cani con MDCV e ICc.					
§§ $P < 0,01$ rispetto ai cani con MDCV e ICc.					
§§§ $P < 0,001$ rispetto ai cani con MDCV e ICc .					
# $P < 0,001$ rispetto ai cani con MDCV e ICs.					
## $P < 0,001$ rispetto ai cani con MDCV e ICs.					
### $P < 0,001$ rispetto ai cani con MDCV e ICs .					
ICc, insufficienza cardiaca compensata; ICs, insufficienza cardiaca scompensata; Hct, ematocrito; Hb, emoglobina; RDW, red cell distribution width; MCV, volume corpuscolare medio.					

Tabella 4. Dati ecocardiografici					
Variabili	Controlli (n=25)	MDCV		Altre patologie (n=130)	P-value
		ICc (n=91)	ICs (n=48)		
Parametri ecocardiografici					
LVDd/Ao	1,61±0,17	2,09±0,37***	2,78 ± 0,62***,§§§	ND	<0,001
LVDs/Ao	1,02 (0,73-1,22)	1,25 (0,78-2,46)***	1,60 (0,77-2,64)***,§§§	ND	<0,001
LA/Ao	1,30 (0,90-1,50)	1,54 (0,96-2,50)***	2,57 (1,75-3,55)***,§§§	ND	<0,001
FS (%)	35 ± 4	40 ± 9***	43 ± 9***	ND	<0,001
E peak (m/s)	0,80 (0,49-1,09)	0,73 (0,46-1,22)	1,36 (0,32-2,31)***,§§§	ND	<0,001
I dati normalmente distribuiti sono espressi come media ± deviazione standard, i dati non normalmente distribuiti sono espressi come mediana (range)					
* $P < 0,05$ rispetto ai cani controllo.					
** $P < 0,01$ rispetto ai cani controllo.					
*** $P \leq 0,001$ rispetto ai cani controllo.					
§ $P < 0,05$ rispetto ai cani con MDCV e ICc.					
§§ $P < 0,01$ rispetto ai cani con MDCV e ICc.					
§§§ $P < 0,001$ rispetto ai cani con MDCV e ICc.					
# $P < 0,001$ rispetto ai cani con MDCV e ICs.					
## $P < 0,001$ rispetto ai cani con MDCV e ICs.					
### $P < 0,001$ rispetto ai cani con MDCV e ICs.					
ICc, insufficienza cardiaca compensata; ICs, insufficienza cardiaca scompensata; LVDd, diametro del ventricolo sinistro in diastole; Ao, diametro aorta; LVDs, diametro del ventricolo sinistro in sistole; FS, frazione di accorciamento; E peak, onda di riempimento ventricolare iniziale rapido; ND, non disponibile.					

Tabella 5. Correlazione tra i dati demografici, i valori di laboratorio ed i parametri ecocardiografici e RDW			
Variabile	N. di cani	Coefficiente di correlazione	P-value
Età	294	0,097	0,100
Peso	294	0,015	0,802
Hct	294	-0,278	<0,001
Hb	294	-0,280	<0,001
MCV	294	-0,065	0,267
Urea	294	0,137	0,019
Creatinina	294	-0,002	0,971
Proteine	294	-0,018	0,759
LVDd/Ao	164	0,118	0,135
LVDs/Ao	164	0,068	0,387
LA/Ao	164	0,153	0,051
FS	164	0,036	0,649
E-peak	164	-0,037	0,653

RDW, red cell distribution width; Hct, ematocrito; Hb, emoglobina; MCV, volume corpuscolare medio; LVDd, diametro del ventricolo sinistro in diastole; Ao, diametro aorta; LVDs, diametro ventricolo sinistro in sistole; LA, diametro atrio sinistro; FS, frazione di accorciamento; E peak, onda di riempimento ventricolare rapido.

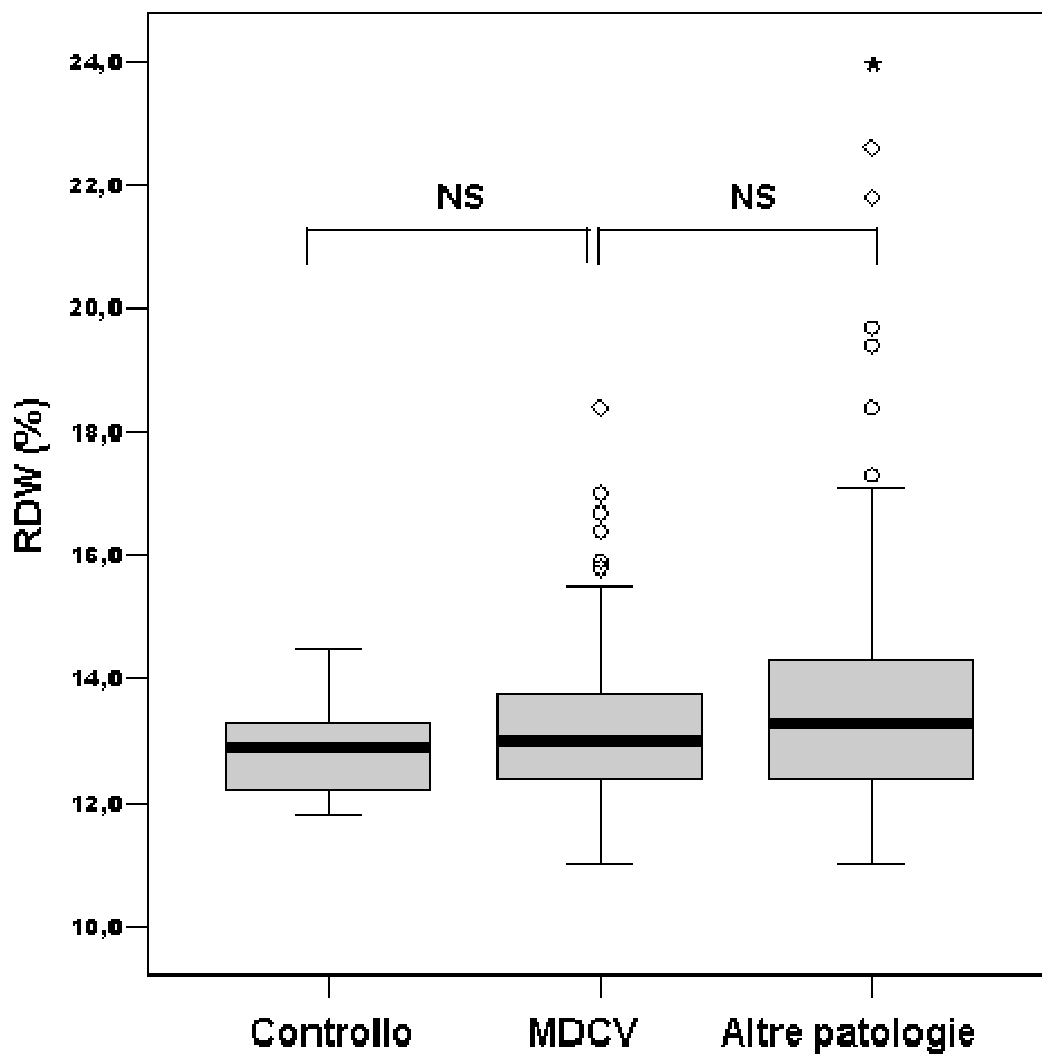


Fig. 4.1 : Rappresentazione grafica della correlazione tra l'RDW e i 3 gruppi di cani utilizzati nello studio: il gruppo di cani controllo, il gruppo di cani con malattia degenerativa valvolare cronica (MDCV) e il gruppo di cani con altre patologie.

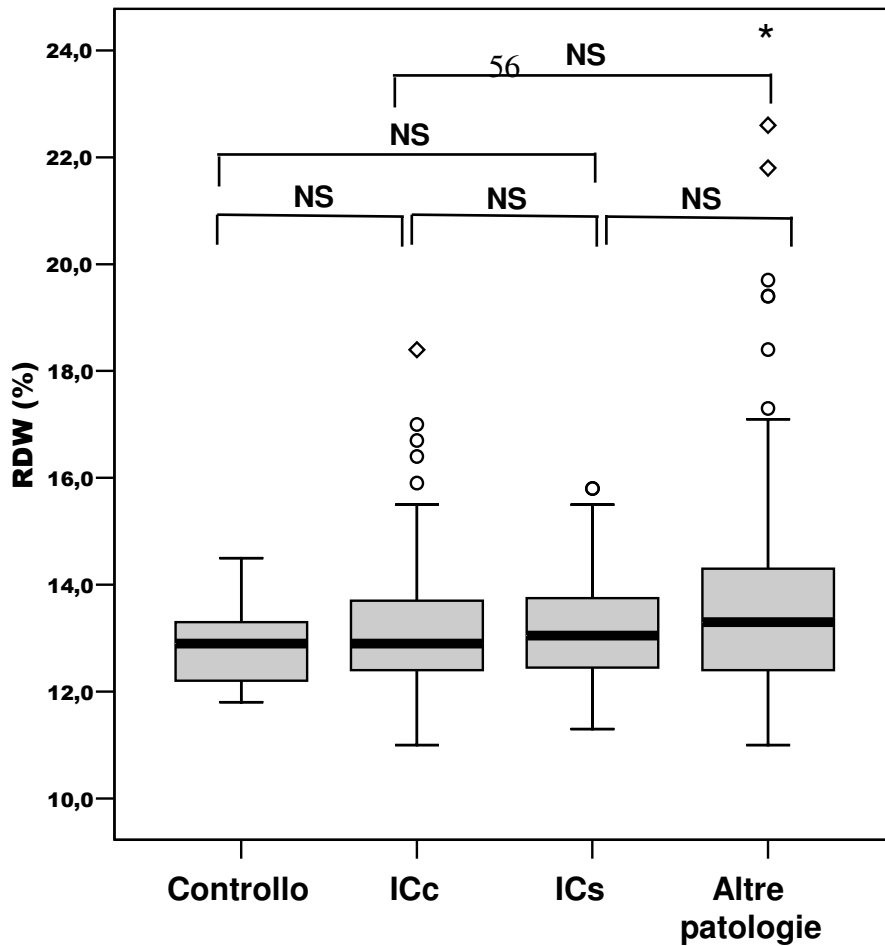


Fig. 4.2 : Rappresentazione grafica della correlazione tra l' RDW e i gruppi utilizzati nello studio suddividendo il gruppo di cani con MDCV nei due sottogruppi di cani con insufficienza cardiaca compensata (ICc) e con insufficienza cardiaca scompensata (ICs).

4.3 DISCUSSIONE

Lo scopo principale di questo studio è stato quello di valutare se l'RDW, parametro che viene calcolato di routine dai più moderni strumenti utilizzati per l'esecuzione dell'esame emocromocitometrico, si modifichi in corso di MDCV del cane.

Nel campo della medicina umana numerosi studi pubblicati negli ultimi anni (Felker et al., 2007; Al-Najjar Y. et al., 2009; Allen L.A. et al., 2010) hanno messo in evidenza la forte relazione tra l'anemia, di cui l' RDW è un indice molto significativo, e l'insufficienza cardiaca. Questo ha indirizzato i numerosi studi successivi con lo scopo di comprendere i meccanismi patofisiologici che mettono in relazione l'anemia e l'insufficienza cardiaca nell'uomo; questi includono: la carenza di ferro, l'anemia da diluizione, una anemia legata a patologie croniche e ad alterazioni della funzionalità renale, la cosiddetta sindrome anemica cardio-renale. Quindi la correlazione tra un incremento dell' RDW e l'insufficienza cardiaca nell'uomo sembra essere legata ad uno stato infiammatorio e ad una alterazione nel metabolismo del ferro che sembra possa essere messo in rapporto con la progressione della patologia cardiaca (Allen L.A. et al., 2010).

In medicina veterinaria, nello specifico nel cane, l'insufficienza cardiaca è una situazione molto frequente, ma i dati presenti in letteratura riguardanti una eventuale correlazione tra l'anemia e le patologie cardiache sono molto scarsi.

Per questo motivo si è intrapreso tale studio, il cui scopo è stato quello di valutare l'eventuale presenza di correlazione tra l'RDW e la MDCV nel cane, così come già appurato in medicina umana.

Attraverso la valutazione delle differenze significative ottenute dai dati ematobiochimici e dai parametri ecocardiografici utilizzati in questo studio è stato messo in evidenza che il valore dell'RDW non presenta una correlazione significativa con cani con MDCV, sia che questi presentino insufficienza cardiaca compensata che scompensata. L' RDW non presenta variazioni significative nei cani con aumento delle dimensioni dell'atrio sinistro o con alterata funzionalità cardiaca legata a degenerazione valvolare.

L'anemia, infatti, si è dimostrata una evenienza poco frequente nei cani con patologie cardiache, al contrario di quanto avviene nell'uomo. Inoltre l'anemia è risulta più

frequente nei cani con altre patologie piuttosto che nei cani con MDCV. Un leggero calo dell'ematocrito, ma non della concentrazione emoglobinica, è stato comunque osservato nei cani con insufficienza cardiaca compensata rispetto a quelli con insufficienza cardiaca scompensata.

Da questi risultati si evince quindi che l'RDW, che è un importante indice di anemia, nel cane non è legato all'MDCV dal momento che i pazienti affetti da tale patologia cardiaca nella maggior parte dei casi non presentano segni di anemia. Questo può essere spiegato dal momento che dai risultati dello studio si può notare che la maggioranza dei cani affetti da MDCV manifesta una azotemia pre-renale e quindi non legata ad un danno del rene stesso; infatti un danno renale, presente invece nella azotemia renale, comporta un calo nella produzione di eritropoietina, un ormone glicoproteico la cui funzione principale è la regolazione dell'eritropoiesi grazie alla stimolazione delle cellule progenitrici eritroidi a livello del midollo osseo.

A causa della natura retrospettiva di questo studio sono presenti alcune limitazioni che è necessario sottolineare. In primo luogo, il gruppo di animali con altre patologie ma esenti da MDCV è stato costituito solamente sulla base di una mancanza di segni fisici riferibili a patologie cardiache durante l'esame obiettivo generale, vale a dire il mancato apprezzamento di un soffio cardiaco all'esame di auscultazione, ma non sono stati condotti approfondimenti ecocardiografici che, in realtà, sono necessari per escludere con certezza l'assenza di cardiopatie; è pur vero che un animale affetto da MDCV presenta un soffio cardiaco nell'emitorace sinistro udibile nella maggior parte dei casi. In secondo luogo, i cani sani e quelli con altre patologie senza MDCV sono risultati incrociati con il gruppo di cani con MDCV in base al sesso, ma non per quanto riguarda età e peso corporeo. Data l'elevata prevalenza della MDCV in cani anziani e di media-piccola taglia, è risultato difficile reperire cani con queste caratteristiche ma totalmente privi di lesioni riferibili a MDCV.

I dati ottenuti con questo studio, per la bibliografia da noi consultata, sono fra i primi nella letteratura veterinaria a proporre una valutazione della validità dell'RDW per la valutazione di cani affetti da MDCV; per questo si ritiene che nonostante i risultati del presente studio, i quali non dimostrano la presenza di una reale correlazione, questo

rapporto appurato in medicina umana meriti in futuro altre indagini più approfondite anche nel campo della medicina veterinaria.

CAPITOLO 5

CONCLUSIONI

I risultati del presente studio mettono in evidenza il mancato rapporto tra l'RDW e l'MDCV nel cane, a differenza dei risultati ottenuti dai numerosi studi compiuti nell'ambito della medicina umana.

L'incremento dell'RDW è da sempre legato ad uno stato di anemia, sia questa lieve, moderata o grave, nel paziente; e permette la distinzione tra anemia rigenerativa e non rigenerativa.

Dai risultati dello studio viene messo in evidenza che: i cani con MDCV hanno una bassa prevalenza di anemia, una bassa prevalenza di anemia cardiorenale e in caso presentino azotemia, questa si manifesta come azotemia pre-renale

L'azotemia dei pazienti con MDCV, essendo di tipo pre-renale, non è pertanto legata ad un danno del parenchima renale che continua, quindi, la produzione fisiologica di eritropoietina necessaria per stimolare l'attività di eritropoiesi a livello del midollo osseo; ma è legata ad un calo di perfusione del rene stesso.

Al contrario l'RDW sembra essere maggiore nel gruppo di cani con altre patologie, piuttosto che in quelli con MDCV, nei quali è legato all'anemia rigenerativa.

Da questo studio si evince che l'RDW nei cani con MDCV non è in rapporto con le modificazioni cardiache che vengono messe in evidenza anche dall'esame ecocardiografico.

Ad ogni modo a causa della natura retrospettiva dello studio e delle sue conseguenti limitazioni si ritiene che i dati ottenuti attraverso questo lavoro meritino in futuro un ulteriore approfondimento per valutare la reale importanza dell'RDW come marker prognostico nei cani con MDCV; a tal proposito risulterà necessaria una valutazione a lungo termine del decorso della malattia nei pazienti presi in esame

RINGRAZIAMENTI

Giunta alla fine di questa esperienza sento la necessità di ringraziare chi mi ha permesso di raggiungere questo traguardo.

Innanzitutto ringrazio chi mi ha aiutato nell'elaborazione di questa tesi.

Ringrazio il Professor C. Guglielmini per essere sempre stato disponibile nei miei confronti e per la pazienza che lo ha sempre contraddistinto nell'aiutarmi in questo percorso.

Ringrazio, inoltre, la Dott.ssa H. Poser per il suo ottimo lavoro di correlatrice e per le sue spiegazioni esaurienti e la Dott. ssa A. Dalla Pria per il prezioso aiuto che mi ha fornito.

Ringrazio il Dott. M. Drigo per il suo aiuto per la parte statistica e la Dott.ssa A. Luciani per i dati utilizzati nella tesi provenienti dal Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie dell'Università di Teramo.

Ringrazio i miei genitori per essermi sempre stati accanto in ogni occasione, per aver creduto in me, per avermi sempre sostenuta ed infine per avermi insegnato che qualsiasi difficoltà può essere superata. Siete meravigliosi.

Ringrazio i miei familiari, in particolare mia zia Liliana, che, come dice lei, è la mia più grande sostenitrice da sempre.

Un enorme ringraziamento a Gabriele, per essermi stato vicino in qualsiasi momento...”Senza di te tutto sarebbe stato più difficile”.

Ringrazio i miei amici, tutti, per avermi fatto ridere quando ne ho avuto bisogno e per avermi saputo ascoltare; per le belle serate, per i ripassi prima di un esame e per tutte le volte che mi siete stati accanto.

Ringrazio di cuore tutti coloro che mi sono stati vicini in questa esperienza, anche Charlie e Smoke per avermi ricordato nei momenti più difficili perché ho deciso di intraprendere questo percorso.

BIBLIOGRAFIA:

1. Allen L.A. et al., Validation and potential mechanism of red cell distribution width as a prognostic marker in heart failure. *Journal of Cardiac Failure*, 2010, 16: 230-238
2. Al-Najjar Y. et al., Red cell distribution width: an inexpensive and power-full prognostic marker in heart failure, *European Journal of Heart Failure*, 2009, 11: 1155-1162
3. Atkins C. et al., Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2009, 23: 1142-1150
4. Bonfanti U., Comazzi S., Paltrinieri S. et al., Stomatocytosis in 7 related standard schnauzers, *Veterinary Clinical Pathology*, 2004, 33: 234-239.
5. Borgarelli M., Savarino P., Crosara S., et al., Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease, *Journal Veterinary Internal Medicine*, 2008, 22: 120-128.
6. Borgarelli M., Haggstrom J., Canine degenerative myxomatous mitral valve disease: natural, history, clinical presentation and therapy, *Veterinary Clinical North America Small Animal Practice*, 2010, 40(4): 651-653
7. Boswood A., Murphy A., The effect of heart disease, heart failure and diuresis on selected laboratory and electrocardiographic parameters in dogs, *Journal of Veterinary Cardiology*, 2006, 8: 1-9.

8. Boswood A. et al., The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine cardiac disease, *Journal of Small Animal Practice*, 2008, 49: 26-32
9. Boswood A., Biomarkers in cardiovascular disease: beyond natriuretic peptides, *Journal of Veterinary Cardiology*, 2009, 11, S23-S32
10. Brown D.E., Weiser M.G., Thrall M.A., et al., Erythrocyte indices and volume distribution in a dog with stomatocytosis, *Veterinary Pathology*, 1994, 31: 247-250.
11. Buchanan J.W., Prevalence of Cardiovascular Disorders. In: Fox P.R., Sisson D., Moïse N.S., eds. *Textbook of Canine and Feline Cardiology*, 2nd edition Philadelphia, PA: WB Saunders; 1999: 457-490.
12. Chetboul V. et al., Association of plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration with mitral regurgitation severity and outcome in dogs with asymptomatic degenerative mitral valve disease, *Journal Veterinary Internal Medicine*, 2009, 23: 984-994
13. Chetboul V., Daste T., Gouni V., et al., Renal resistive index in 55 dogs with degenerative mitral valve disease, *Journal Veterinary Internal Medicine*, 2012, 26: 101-108.
14. Clarke K. et al., RDW as an additional marker in inflammatory bowel disease/ undifferentiated colitis, *Digestive Diseases Sciences*, 2008, 53: 2521- 2523
15. Drobatz K. J., Measures of accuracy and performance of diagnostic tests, *Journal of Veterinary Cardiology*, 2009, 11: S33-S40
16. Felker G.M. et al., Red cell distribution width as a novel prognostic marker in heart failure, *Journal of the American College of Cardiology*, 2007, 50: 40-47

17. Fine D.M. et al., Evaluation of circulating amino terminal-pro-B type-natriuretic peptide concentration in dogs with respiratory distress attributable to congestive heart failure or primary pulmonary disease, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2008, 232: 1674-1679
18. FörhécZ Z. et al., Red cell distribution width in heart failure: prediction of clinical events and relationship with markers of ineffective erythropoiesis, inflammation, renal function, and nutritional state, *American Heart Journal*, 2009, 158: 659-666
19. Haggstrom J., Kwart C., Pedersen H.D., *Patologie acquisite delle valvole cardiache*, S.J. Ettinger e E.C. Feldman, *Clinica medica veterinaria*, Vol. 2, Milano. Elsevier Masson, 2007
20. Haggstrom J. et al., Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study, *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008; 22: 1124-1135
21. Hampole C.V. et al., Usefulness of red cell distribution width as a prognostic marker in pulmonary hypertension, *The American Journal of Cardiology*, 2009, 104: 868-872
22. Hodges J., Christopher M.M, Diagnostic accuracy of using erythrocyte indices and polychromasia to identify regenerative anemia in dogs, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2011, 238, 11: 1452-1458
23. Moesgaard S.G. et al., Neurohormonal and circulatory effects of short-term treatment with enalapril and quinapril in dogs with asymptomatic mitral regurgitation, *Journal Veterinary Internal Medicine*, 2005, 19: 712-719

24. Moritz A., Fickenscher Y., Meyer K., Failing K., Weiss D.J., Canine and feline hematology reference values for the ADVIA 120 hematology system, *Veterinary Clinical Pathology*, 2004; 33: 32-38.
25. Neiger R., Hadley J., Pfeiffer D.U., Differentiation of dogs with regenerative end non-regenerative anaemia on the basis of their red cell distribution width and mean corpuscular volume, *The Veterinary Record*, 2002, 150: 431-434
26. Nicolle A.P., Chetboul V., Allerheiligen T. et al., Azotemia and glomerular filtration rate in dogs with chronic valvular disease, *Journal Veterinary Internal Medicine*, 2007, 21: 943-949.
27. Oh J. et al., Relation between red cell distribution width with echocardiographic parameters in patients with acute heart failure, *Journal of Cardiac Failure*, 2009, 15: 517-522
28. Olsen L.H., Häggstrom J., Petersen H.D., Acquired valvular heart disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 7th edition St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2010: 1299-1319.
29. Oyama M.A., Neurohormonal activation in DMVD. *Journal of Small Animal Practice*, 2009,50, 1: 3-11
30. Sisson D.D., Neuroendocrine evaluation of cardiac disease, *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, 2004, 34: 1105-1126
31. Tang Y.D., Katz S.D., Anemia in chronic heart failure: prevalence, etiology, clinical correlates, and treatment options., *Circulation*, 2006, 113: 2454-2461.
32. Takemura N. et al., Evaluation of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide, *The Journal of Veterinary Medicine Science*, 2009, 71: 925-929

33. Tarnow I., Falk T., Tidholm A. et al., Hemostatic biomarkers in dogs with chronic congestive heart failure, *Journal Veterinary Internal Medicine* 2007,21: 451-457.
34. Thomas W.P., Gaber C.E., Jacobs J. et al., Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat, *Journal Veterinary Internal Medicine*, 1993, 7: 247-252.
35. Tonelli M. et al., Relation between red blood cell distribution width and cardiovascular event rate in people with coronary disease, *Journal of the American Heart Association*, 2008, 163-168
36. Tvedten H. Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, eds. *Schalm's Veterinary Hematology*, 6th edition Ames, IA: Wiley-Blackwell; 2010: 152-161.
37. Villiers E., Blackwood L., *Gli esami di laboratorio, cane e gatto*, Torino, UTET, 2006
38. Von Haehling S., Anker M.S., Jankowska E.A., et al., Anemia in chronic heart failure: can we treat? What to treat?, *Heart Failure Review*, 2011, doi:10.1007/s10741-011-9283-x.
39. Ware W.A., *Malattie dell'apparato cardiovascolare*, Torino, UTET, 2008