

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

**Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e  
Salute**

Corso di Laurea magistrale a ciclo unico in  
MEDICINA VETERINARIA

**Fattori di rischio per la  
fibrillazione atriale in cani con  
cardiomiopatia dilatativa**

Relatore  
Prof. Carlo Guglielmini

Correlatore  
Dott.ssa Carlotta Valente

Laureanda  
Giulia Arcuri

Matricola n.  
1205830

ANNO ACCADEMICO 2022-2023



# INDICE

<b>RIASSUNTO</b> .....	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>8</b>
<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	<b>9</b>
<b>2. CARDIOMIOPATIA DILATATIVA</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1 EPIDEMIOLOGIA</b> .....	<b>12</b>
<b>2.2 EZIOLOGIA</b> .....	<b>13</b>
2.2.1 Cause genetiche.....	13
2.2.2 Cause metaboliche.....	14
2.2.3 Cause immunologiche ed infettive.....	15
2.2.4 Cardiomiopatia tachicardia-indotta .....	15
2.2.5 Cause nutrizionali.....	15
<b>2.3 FISIOPATOLOGIA</b> .....	<b>16</b>
<b>2.4 ISTOLOGIA</b> .....	<b>18</b>
<b>2.5 DIAGNOSI</b> .....	<b>19</b>
2.5.1 Visita clinica.....	20
2.5.2 Esame radiografico.....	20
2.5.3 Esame ecocardiografico .....	21
2.5.4 Esame elettrocardiografico.....	29
2.5.5 Esami del sangue .....	31
<b>2.6 CLASSIFICAZIONE</b> .....	<b>32</b>
<b>2.7 TRATTAMENTO</b> .....	<b>32</b>
2.7.1 Agenti inotropi positivi .....	32
2.7.2 ACE-inibitori.....	33
2.7.3 Diuretici.....	33
2.7.4 Altre terapie.....	34
<b>2.8 PROGnosi</b> .....	<b>34</b>
<b>3. FIBRILLAZIONE ATRIALE</b> .....	<b>36</b>
<b>3.1 EPIDEMIOLOGIA</b> .....	<b>37</b>
<b>3.2 FISIOPATOLOGIA</b> .....	<b>38</b>

3.2.1 Focolai ectopici atriali .....	38
3.2.2 Rientro .....	38
3.2.3 Rimodellamento atriale .....	39
3.2.4 Insufficienza cardiaca congestizia .....	40
<b>3.3 FATTORI DI RISCHIO .....</b>	<b>42</b>
3.3.1 FA nell'uomo .....	42
3.3.2 FA nel cane .....	43
<b>3.4 SEGNI CLINICI .....</b>	<b>44</b>
<b>3.5 DIAGNOSI .....</b>	<b>44</b>
<b>3.6 TERAPIA .....</b>	<b>46</b>
3.6.1 Rate control .....	46
3.6.2 Rhythm control .....	48
<b>3.7 PROGNOSI .....</b>	<b>49</b>
<b>4. CONTRIBUTO SPERIMENTALE .....</b>	<b>51</b>
<b>4.1 OBIETTIVO DELLO STUDIO .....</b>	<b>51</b>
<b>4.2 MATERIALI E METODI .....</b>	<b>52</b>
4.2.1 Animali .....	52
4.2.2 Esame ecocardiografico .....	53
4.2.3 Analisi statistica .....	55
<b>4.3 RISULTATI .....</b>	<b>56</b>
4.3.1 Animali .....	56
4.3.2 Analisi univariata e multivariata .....	60
4.3.3 Analisi con curve ROC .....	62
<b>4.4 DISCUSSIONE .....</b>	<b>65</b>
<b>5. CONCLUSIONI .....</b>	<b>73</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>74</b>

# INDICE DELLE ABBREVIAZIONI

ACE: <i>angiotensin convertyng enzyme</i>	FA: <i>fibrillazione atriale</i>
ADH: <i>antidiuretic hormone</i>	FS: <i>fractional shortening</i>
ANP: <i>atrial natriuretic peptide</i>	IVSs/d: <i>interventricular septum</i> <i>systolic/diastolic</i>
Ao: <i>aorta diameter</i>	LA: <i>left atrial diameter</i>
AUC: <i>area under the curve</i>	LA:Ao: <i>left atrial diameter to aortic</i> <i>diameter ratio</i>
B-CHF: <i>biventricular congestive heart</i> <i>failure</i>	LAF: <i>lone atrial fibrillation</i>
BNP: <i>brain natriuretic peptide</i>	L-CHF: <i>left-sided congestive heart</i> <i>failure</i>
BSA: <i>body surface area</i>	+LR: <i>positive likelihood ratio</i>
CHF: <i>congestive heart failure</i>	-LR: <i>negative likelihood ratio</i>
CI: <i>confidence interval</i>	LVDD: <i>left ventricular diastolic</i> <i>diameter</i>
CNP: <i>C-type natriuretic peptide</i>	LVDDn: <i>normalized left ventricular</i> <i>diastolic diameter</i>
cTnI: <i>cardiac troponin I</i>	LVEDV: <i>left ventricular end diastolic</i> <i>volume</i>
DCM: <i>dilated cardiomyopathy</i>	LVPWs: <i>left ventricular posterior wall</i> <i>end systole</i>
EDV: <i>end-diastolic volume</i>	LVPWd: <i>left ventricular posterior wall</i> <i>end diastole</i>
EDVI: <i>end diastolic volume index</i>	LVSD: <i>left ventricular systolic diameter</i>
EF: <i>ejection fraction</i>	LVSDn: <i>normalized left ventricular</i> <i>systolic diameter</i>
E mitral: <i>mitral valve maximal E wave</i> <i>velocity</i>	
EPSS: <i>E-point to septal separation</i>	
ESV: <i>end systolic volume</i>	
ESVC: <i>European Society of Veterinary</i> <i>Cardiology</i>	
ESVI: <i>end systolic volume index</i>	
ET: <i>ejection time</i>	
EV: <i>endovena</i>	

MMVD: *myxomatous mitral valve disease*

NT-proBNP: *N-terminal pro BNP*

OR: *odds ratio*

PEP: *pre-ejection period*

RAAS: *Renin-Angiotensin-Aldosterone System*

RAE: *right atrial enlargement*

R-CHF: *right congestive heart failure*

ROC: *Receiver Operating Characteristic System*

RVIDd: *right ventricular internal diameter in diastole*

SCD: *sudden cardiac death*

SD: *standard deviation*

SE: *standard error*

SI: *sphericity index*

SMOD *Simpson's method of disc*

STE: *speckle tracking echocardiography*

TR: *tricuspid regurgitation*

UO: *unità operativa*

VPC: *ventricular premature complex*

## RIASSUNTO

La fibrillazione atriale (FA) è la più comune tachiaritmia sopraventricolare nel cane e si riscontra frequentemente nei cani di grossa taglia con cardiomiopatia dilatativa (DCM).

L'obiettivo di questo studio retrospettivo multicentrico è stato quello di identificare i fattori di rischio per lo sviluppo di FA in cani affetti da DCM.

L'indagine è stata condotta sui cani osservati in cinque centri cardiologici specialistici nel periodo da Gennaio 2018 a Dicembre 2021 ed ha incluso tutti gli animali con diagnosi ecocardiografica di DCM occulta e conclamata. Tutti gli animali sono stati sottoposti a visita clinica ed esame ecocardiografico completo. I cani sono stati suddivisi in due gruppi, animali con o senza FA diagnostica, ed è stato eseguito un confronto statistico relativo a variabili cliniche ed ecocardiografiche tra i due gruppi. Inoltre, è stata valutata l'accuratezza diagnostica delle variabili continue significativamente diverse tra i due gruppi per determinare lo sviluppo di FA. Infine, è stato eseguito un modello di regressione lineare univariata e multivariata per identificare variabili indipendentemente associate allo sviluppo di FA.

La popolazione di studio ha compreso 89 cani di proprietà, di cui 39 (44%) presentavano FA, 29 (32.6%) mostravano un ritmo sinusale e 21 (23.6%) presentavano altre aritmie cardiache.

Il diametro dell'atrio sinistro presentava un'elevata accuratezza diagnostica nel predire lo sviluppo di FA al cut-off di >4,66 cm. Il modello di regressione multivariata ha evidenziato che solamente l'aumento del diametro dell'atrio sinistro e la presenza di ingrandimento dell'atrio destro costituivano dei fattori predittivi significativi per lo sviluppo di FA.

In conclusione, i risultati di questo studio indicano che la FA è una complicanza frequente della DCM nel cane e che risulta significativamente associata all'aumento assoluto del diametro dell'atrio sinistro e alla presenza di ingrandimento dell'atrio destro nei cani di grossa taglia con DCM.

## ABSTRACT

Atrial fibrillation (AF) is the most common supraventricular tachyarrhythmia in dogs, and commonly occurs in large breed dogs with dilated cardiomyopathy (DCM).

The aim of this multicenter retrospective study was to identify risk factors for the development of AF in dogs with DCM.

The survey was conducted on dogs visited in five cardiology referral centres from January 2018 to December 2021 and included all animals with an echocardiographic diagnosis of occult and overt DCM. All animals underwent clinical and complete echocardiographic examination. The dogs were divided into two groups, animals with or without AF, and a statistical comparison of clinical and echocardiographic variables was made between the two groups. Furthermore, the diagnostic accuracy of significantly different continuous variables between the two groups was evaluated to determine the presence of AF. Finally, a univariate and multivariate linear regression model was performed to identify variables independently associated with the development of AF.

The study population consisted of 89 client-owned dogs, of which 39 (44%) had AF, 29 (32.6%) exhibited sinus rhythm, and 21 (23.6%) had other cardiac arrhythmias.

The left atrial diameter had a high diagnostic accuracy to predict the development of AF at the cut-off of >4.66 cm. Multivariate stepwise logistic regression analysis showed that only the increase in left atrial diameter and the presence of right atrial enlargement were significant predictors of the development of AF.

In conclusion, the results of this study indicate that AF is a common complication of DCM in dogs and that it is significantly associated with the absolute increase in left atrial diameter and evidence of right atrial enlargement in large breed dogs with DCM.



# 1. INTRODUZIONE

La cardiomiopatia dilatativa (DCM) è una tra le patologie cardiache acquisite più frequenti nel cane. Questa patologia può presentarsi sia in forma primaria (o idiopatica), di più frequente riscontro nel cane, sia in forma secondaria. Si tratta di una patologia che colpisce più frequentemente cani di grossa taglia: nel Dobermann, viene riportata con una prevalenza fino al 58%, ma è stata descritta anche in altre razze come l'Alano, il Labrador Retriever ed il Terranova (Tidholm et al., 2001; Shen et al., 2022).

La DCM è un disordine miocardico caratterizzato da disfunzione sistolica e dilatazione ventricolare sinistra, con possibile sviluppo, nei casi più gravi, di insufficienza cardiaca congestizia (*congestive heart failure*, CHF) e morte del soggetto (Borgarelli et al., 2001).

I sintomi di più comune riscontro associati alla malattia sono depressione del sensorio, perdita di peso, intolleranza all'esercizio, tosse, tachicardia, tachipnea ed episodi sincopali. Nonostante i reperti riscontrati durante la visita clinica, come per esempio dispnea, ritmo cardiaco irregolare e presenza, all'auscultazione, di un soffio cardiaco sistolico ed occasionalmente di un ritmo di galoppo, indicativo di disfunzione sistolica, per confermare la diagnosi è però necessario l'utilizzo di tecniche di imaging come la radiografia, l'ecocardiografia e l'elettrocardiografia. In particolare, durante l'esame ecocardiografico devono essere valutati diversi parametri, tra cui il diametro telesistolico e telediastolico del ventricolo sinistro normalizzati per il peso corporeo (LVSDn e LVDDn rispettivamente), la frazione di accorciamento (FS), la frazione di eiezione (EF) e l'indice di sfericità (SI) (Dukes-McEwan et al., 2003; Wess, 2022).

Oltre alla diagnostica per immagini l'analisi di alcuni biomarker laboratoristici, come la porzione N-terminale del pro-peptide natriuretico cerebrale (NT-proBNP) o la troponina I cardiaca (cTnI), può rappresentare uno strumento aggiuntivo per lo screening della DCM. Si tratta, tuttavia, di indicatori aspecifici di disordini del miocardio, motivo per cui questi valori devono essere sempre correlati con i reperti riscontrati alla visita clinica e con i risultati della diagnostica per immagini (Wess et al., 2017; Wess, 2022).

Una delle complicazioni più frequenti nei cani affetti da DCM è lo sviluppo di fibrillazione atriale (FA).

La FA è la più comune tachiaritmia sopraventricolare del cane. Si tratta di un disturbo del ritmo caratterizzato da un'attivazione atriale estremamente rapida ed irregolare, con perdita della contrazione atriale, compromissione del riempimento ventricolare e riduzione della gittata cardiaca.

Il sospetto di FA può insorgere durante la visita clinica quando il soggetto presenta una frequenza cardiaca aumentata (130-260 bpm) con deficit cuore-polso, intensità del polso variabile e possibile presenza di un soffio cardiaco (Pedro et al., 2020a). Tuttavia, la conferma della diagnosi può essere effettuata solamente tramite esame elettrocardiografico. In caso di FA, infatti, si riscontra un aumento della frequenza cardiaca e si osserva, sul tracciato elettrocardiografico, la presenza di intervalli R-R irregolari, l'assenza di onde P e la loro sostituzione con le onde f (onde di fibrillazione) e la presenza di complessi QRS stretti (Santilli et al., 2020).

Nell'uomo, tra i principali fattori di rischio per lo sviluppo di FA sono descritti la dilatazione dell'atrio sinistro, l'età e la presenza di insufficienza cardiaca congestizia (CHF) (January et al., 2019; Pedro et al., 2020a).

Anche nel cane affetto da malattia degenerativa della valvola mitralica (MMVD) la dilatazione atriale sinistra sembra rappresentare un fattore di rischio per lo sviluppo di questa aritmia. Inoltre, alcuni studi hanno riportato come in cani di razza Dobermann affetti da DCM anche il peso corporeo del soggetto, la presenza di CHF, la diminuzione della frazione di accorciamento del ventricolo sinistro e la dilatazione dell'atrio destro possano predisporre allo sviluppo di questa aritmia (Friederich et al., 2020; Guglielmini et al., 2000; Gugliemini et al., 2020).

Infine, nel cane affetto da MMVD o DCM si è visto che lo sviluppo di FA è un fattore prognostico per la sopravvivenza del soggetto (Jung et al., 2016; Friederich et al., 2020).

Per quanto riguarda il cane affetto da DCM in realtà, solo pochi studi si sono concentrati specificatamente sui fattori di rischio per lo sviluppo di FA in una popolazione eterogenea di razze differenti. In particolare, infatti, la maggior parte degli studi ha incentrato il proprio interesse sul Levriero Irlandese, essendo questa una delle

razze più frequentemente colpita (Vollmar et al., 2019a; Tyrrell et al., 2020). Tuttavia, nessuno studio si è concentrato in modo più approfondito sui fattori di rischio per lo sviluppo di FA in una popolazione eterogenea di cani di razze diverse affetti da DCM in diversi stadi della malattia. Pertanto, l'obiettivo del presente studio è stato quello di identificare i fattori di rischio per lo sviluppo di FA in cani di razze differenti affetti da DCM.

## **2. CARDIOMIOPATIA DILATATIVA**

La cardiomiopatia dilatativa (DCM) è la seconda patologia cardiaca più frequentemente riscontrata nel cane, dopo la malattia degenerativa valvolare. Si tratta di un disordine miocardico caratterizzato da disfunzione sistolica e ingrandimento ventricolare, in particolare del ventricolo sinistro, con possibile sviluppo, nei casi più gravi, di insufficienza cardiaca congestizia (CHF) (Borgarelli et al., 2001).

Esistono due forme di DCM: primaria (o idiopatica) e secondaria. La DCM primaria (o idiopatica) è la forma più comune, ed è definita come un disordine ad eziologia incerta o sconosciuta e non correlato a nessuna patologia sistemica o cardiaca ben identificata.

Quella secondaria viene classificata sulla base dell'eziologia, come DCM indotta da farmaci, tossine, disordini genetici, infiltrativi, ischemici, metabolici, nutrizionali o infiammatori a carico del miocardio (Tidholm et al., 2001).

### **2.1 EPIDEMIOLOGIA**

La prevalenza della DCM nella popolazione canina è stimata intorno allo 0,5% (Shen et al., 2022). È riconosciuta una predisposizione di razza, con una maggior incidenza in soggetti di razze come il Dobermann Pinscher, Boxer, Cocker Spaniel inglese, Portoghese Water dog, Alano, Levriero Irlandese, Terranova e Welsh Springer Spaniel. Tra queste la razza più colpita è il Dobermann Pinscher con una prevalenza fino al 58% (Tidholm et al., 2001; Shen et al., 2022). Inoltre, in alcuni studi è stata riscontrata anche una predisposizione di sesso, con maggior prevalenza nei maschi piuttosto che nelle femmine (McCauley et al., 2020; Tidholm et al., 2001). Nel Dobermann, per esempio, si ha una prevalenza di circa il 50% nel maschio e il 33% nella femmina (O'Grady & O'Sullivan, 2004).

## 2.2 EZIOLOGIA

La DCM primaria è idiopatica, pertanto, per definizione, non se ne conoscono le cause. Per quanto riguarda la DCM secondaria, invece, si possono riscontrare diverse eziologie, come di seguito descritto.

### 2.2.1 Cause genetiche

La DCM è un disordine a carattere ereditario in alcune razze, e la causa genetica rimane quella più probabile nel cane.

La trasmissione genetica è stata studiata principalmente nel Dobermann Pinscher, ma sono state riscontrate mutazioni anche in altre razze predisposte (Shen et al., 2022).

Nel Dobermann ci sono due mutazioni che sono risultate associate alla DCM. La prima mutazione, chiamata DCM1, è trasmessa con modalità autosomica dominante e consiste in una delezione di 16 paia di basi a livello del sito donatore di splicing di un introne nel gene PDK4 che codifica per la piruvato deidrogenasi chinasi 4. Si tratta di un'importante proteina regolatrice del metabolismo dei cardiomiociti, che determina l'ossidazione degli acidi grassi per produrre energia, inibendo l'ossidazione del glucosio. Questa mutazione determina una diminuita espressione della proteina e una condizione di carenza energetica a livello dei miocardiociti (Shen et al., 2022).

La seconda mutazione, chiamata DCM2, a trasmissione autosomica dominante, è una mutazione missenso del gene della titina, risultante nella sostituzione di un amminoacido altamente conservato da glicina ad arginina. La titina è una proteina che contribuisce alla contrazione miocardica attraverso lo svolgimento e ripiegamento dei suoi numerosi domini in risposta alla tensione. Questa mutazione nel Dobermann è risultata associata ad una diminuzione della tensione attiva a livello miocardico (Shen et al., 2022).

Il gene della distrofina è stato individuato come responsabile per alcuni casi di DCM legati all'X. La distrofia muscolare canina legata all'X può causare gravi conseguenze anche a livello cardiaco e la delezione dell'intero gene della distrofina è

stata dimostrata nel cane da ferma tedesco a pelo corto, associata a miopatie scheletriche e sviluppo di DCM (Tidholm & Jönsson, 2005).

Nel Welsh Springer Spaniel è stata identificata la mutazione R9H a trasmissione autosomica dominante. Si tratta di una mutazione missenso risultante in una sostituzione amminoacidica da arginina a istidina, a carico del gene del fosfolambano, un inibitore della pompa  $\text{Ca}^{2+}$  ATP-asi, responsabile del reuptake di calcio nel reticolo sarcoplasmatico. La mutazione a carico di questo gene determina una riduzione dell'uptake di ioni  $\text{Ca}^{2+}$  con danni alla contrattilità miocardica (Shen et al., 2022).

Una modalità di trasmissione autosomica recessiva è stata descritta nella DCM ad esordio precoce nello Schnauzer standard e gigante in cui è stata individuata una delezione di 22 paia di basi che comporta una mutazione frameshift nel RNA-binding motif protein 20. Si tratta di una proteina coinvolta nello splicing di diversi importanti geni a livello miocardico, ed un'alterazione dello splicing della titina è considerata responsabile dello sviluppo di DCM associato a questa mutazione (Shen et al., 2022).

### **2.2.2 Cause metaboliche**

La DCM risulta essere associata ad alcuni disordini metabolici, soprattutto l'ipotiroidismo. Infatti, gli ormoni tiroidei regolano proteine fondamentali a livello cardiaco, aventi un effetto inotropo e cronotropo positivo. Essi aumentano, a livello cardiaco, la concentrazione di AMPc e inositolo-1,4,5-trifosfato (InsP3), determinando un maggior ingresso di ioni calcio nel citoplasma e una maggiore contrattilità. Condizioni di ipotiroidismo possono determinare una riduzione della funzionalità sistolica, bassi voltaggi del complesso QRS e bradicardia sinusale.

In alcuni studi è stato dimostrato che la concentrazione dell'ormone stimolante la tiroide (TSH) e la tiroxina totale (tT4) non differisce in maniera significativa tra soggetti sani, soggetti con DCM in forma asintomatica o sintomatica, mentre sono stati individuati livelli molto bassi di tiroxina libera in cani con DCM in forma sintomatica rispetto a quelli in forma asintomatica (Borgarelli et al., 2001; McCauley et al., 2020).

### **2.2.3 Cause immunologiche ed infettive**

Alla base dello sviluppo di DCM si sospettano anche dei processi immunologici, con auto-anticorpi diretti contro diverse strutture cardiache, come i recettori  $\beta$ -adrenergici, i mitocondri, e le catene pesanti della miosina. Tuttavia, molti di questi anticorpi non risultano essere specifici per la DCM, in quanto sono individuati anche in caso di ipertensione, cardiomiopatia ipertrofica e miocarditi (Tidholm et al., 2001).

Altre cause alla base dell'insorgenza della DCM possono essere disordini a carattere infiammatorio come le miocarditi. Queste sono definite come la presenza di un infiltrato infiammatorio con o senza necrosi dei miociti. Esse comportano una condizione di ipocinesia, conseguente ad una risposta anticorpale che può determinare un effetto citotossico con danni al miocardio. Generalmente la principale causa di miocardite è rappresentata da virus, come il Parvovirus, ma ci possono essere anche batteri come *Borrelia burgdorferi*, *Bartonella*, *Trypanosoma cruzi* e *Neospora caninum* (Tidholm et al., 2001; McCauley et al., 2020).

### **2.2.4 Cardiomiopatia tachicardia-indotta**

Alcuni studi hanno evidenziato che forme di cardiomiopatia e insufficienza cardiaca possono manifestarsi come conseguenza di tachicardia. Infatti, la frequenza cardiaca influenza direttamente la funzionalità sistolica ventricolare. Molti possono essere i meccanismi fisiopatologici coinvolti quali, per esempio, un aumento della richiesta di ossigeno, aumento della distanza tra capillari e cardiomiociti, alterazioni morfologiche dei miociti con allungamento e ipertrofia, riduzione della produzione di ATP e alterato trasporto di calcio (Tidholm et al., 2001; McCauley et al., 2020).

### **2.2.5 Cause nutrizionali**

Recentemente, è stata ipotizzata una correlazione tra la DCM e diete con specifiche caratteristiche come la dieta grain-free oppure che carenze nutrizionali come taurina e/o carnitina possano essere coinvolte nello sviluppo di DCM (McCauley et al., 2020; Walker et al., 2022)

La taurina è un amminoacido fondamentale per la funzionalità cardiovascolare, muscolo-scheletrica e del sistema nervoso centrale ed agisce andando ad aumentare la

concentrazione di calcio intracellulare. Alcuni studi recenti ipotizzano l'esistenza di range specifici per la concentrazione di taurina a seconda della razza (McCauley et al., 2020; Ontiveros et al., 2020).

La carnitina, invece, è una molecola sintetizzata a livello epatico che regola il passaggio degli acidi grassi a lunga catena del citoplasma alla matrice mitocondriale, dove avviene la  $\beta$ -ossidazione per produrre energia. Conseguentemente una carenza di carnitina può portare ad una disfunzione cardiaca e allo sviluppo di DCM (Tidholm et al., 2001; McCauley et al., 2020; Friederich et al., 2020; Wess, 2022).

### **2.3 FISIOPATOLOGIA**

Indipendentemente dal processo alla base dell'insorgenza della patologia, quello che si riscontra in soggetti affetti da DCM è una diminuzione della contrattilità cardiaca, con il conseguente aumento del volume telesistolico del ventricolo sinistro e la diminuzione della portata cardiaca. Questo determina l'attivazione di sistemi compensatori come l'attivazione del sistema nervoso simpatico e del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS).

In cani affetti da DCM, sia asintomatici che sintomatici, è stato riscontrato un aumento delle catecolamine circolanti, in particolare di norepinefrina. Infatti, la concentrazione plasmatica di questa molecola è direttamente correlata con la gravità di disfunzione del ventricolo sinistro.

La noradrenalina è un neurotrasmettitore che, a livello cardiaco, agisce sui recettori adrenergici  $\beta_1$ . Questi recettori, localizzati a livello miocardico, sono fondamentali per la corretta funzionalità cardiaca. Fisiologicamente, la loro stimolazione comporta un effetto inotropo, cronotropo, dromotropo e batmotropo positivo. Conseguentemente, l'attivazione del sistema nervoso simpatico in soggetti affetti da DCM, comporta lo sviluppo di un'ipertrofia eccentrica compensatoria in grado di poter mantenere un'adeguata portata cardiaca a lungo tempo (Borgarelli et al., 2001).

L'elevata concentrazione di noradrenalina, tuttavia, a livello cardiaco può determinare anche altri effetti, come una down-regulation dei recettori adrenergici  $\beta_1$  del miocardio, minor responsività dei recettori  $\beta$ -adrenergici ad agonisti esogeni o endogeni, effetti



trofici e tossici sui miocardiociti, con sviluppo di aritmie e disfunzione ventricolare (Borgarelli et al., 2001).

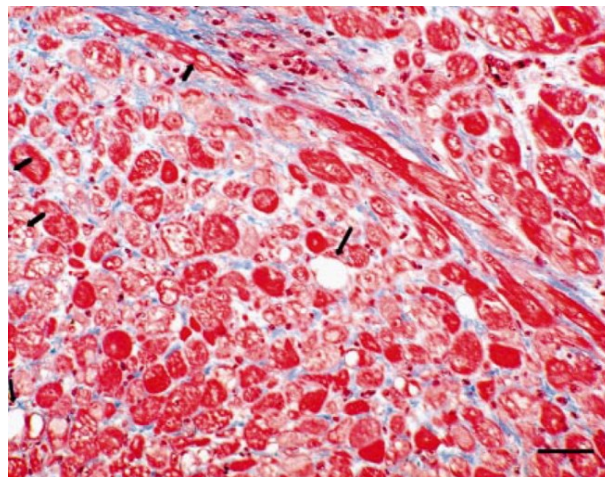
In cani affetti da DCM con CHF è possibile riscontrare anche l'attività di alcuni meccanismi neuroendocrini compensatori, come per esempio il RAAS. Si tratta di un sistema ormonale coinvolto nella regolazione della pressione arteriosa, della volemia e del tono della muscolatura delle arteriole. Esso viene attivato in seguito a condizioni di ipotensione e ipovolemia registrate a livello renale dall'apparato iuxtaglomerulare. A questo livello, infatti, si ha la conversione da pro-renina a renina e il suo rilascio a livello plasmatico. La renina raggiunge il fegato dove determina la conversione dell'angiotensinogeno in angiotensina I. Quest'ultima viene convertita ad angiotensina II dall'enzima ACE (angiotensin convertyng enzyme) a livello dei capillari polmonari. L'angiotensina II è responsabile di diversi effetti. A livello cardiovascolare si lega ai recettori AT1 presenti nell'endotelio delle arteriole determinando vasocostrizione. A livello nervoso agisce sull'ipotalamo, stimolando la sensazione di sete, e sull'ipofisi, aumentando il rilascio di vasopressina (ADH). Quest'ultima, insieme all'effetto diretto dell'angiotensina II a livello renale, contribuisce ad una ritenzione di sodio ed acqua. Infine, l'angiotensina II agisce a livello della corticale del surrene, determinando il rilascio di aldosterone. Anch'esso esercita la sua azione a livello renale, contribuendo alla ritenzione di sodio. Nel complesso, quindi, questo sistema determina un ripristino della pressione arteriosa, tramite un aumento delle resistenze periferiche e del volume sanguigno circolante. In alcuni casi, tuttavia, l'attivazione di questo sistema sul lungo periodo può portare ad un aumento eccessivo del lavoro cardiaco con peggioramento dell'insufficienza cardiaca congestizia. Questa condizione risulta essere compensata da una famiglia di peptidi, comprendenti il peptide natriuretico atriale (ANP), il peptide natriuretico cerebrale (BNP) e il peptide natriuretico di tipo C (CNP). Essi diminuiscono il precarico a livello cardiaco e inibiscono il rilascio di renina, aldosterone e vasopressina. In cani con CHF sono stati riscontrati, infatti, elevati livelli di ANP e BNP, considerati quindi caratteristici di questa condizione.

ANP è un peptide costituito da 28 amminoacidi, secreto in risposta a stiramento e aumento della pressione atriale. In cani affetti da DCM è stato riscontrato un aumento di ANP dalle tre alle quattro volte rispetto a soggetti sani. In particolare, è stato dimostrato

un aumento significativo nella porzione N-terminale del pro-ANP in casi sintomatici ma non negli asintomatici. Questo peptide presenta una funzione natriuretica, vasoattiva e inibitoria del sistema RAAS. BNP, invece, è un peptide costituito da 32 amminoacidi, la cui concentrazione aumenta soprattutto in caso di disfunzione e dilatazione ventricolare. Presenta attività biologiche simili a quelle di ANP. Infine, CNP è un peptide di 22 amminoacidi localizzato nelle cellule endoteliali e coinvolto nel controllo della vascolarizzazione. A differenza degli altri due, CNP non è natriuretico (Borgarelli et al., 2001).

## 2.4 ISTOLOGIA

Dal punto di vista istologico la DCM si può presentare in due forme principali: la forma ad infiltrazione grassa-degenerativa (“fatty infiltration-degenerative”) e quella a fibre miocardiche attenuate ed ondulate (“attenuated wavy fiber”). La tipologia fatty infiltration-degenerative (**Figura 1**) è una forma presente soprattutto nei Dobermann Pinscher e nella cardiomiopatia del Boxer. È caratterizzata da vari reperti istologici, tra cui miocitolisi, degenerazione delle miofibrille, vacuolizzazione, atrofia dei miocardiociti con fibrosi diffusa e sostituzione del miocardio con collagene e clusters di adipociti (Tidholm & Jönsson, 2005).



**Figura 1.** Immagine al microscopio del miocardio del ventricolo sinistro di un cane affetto dalla forma fatty infiltration-degenerative di DCM. Sono presenti degenerazioni vacuolari delle miofibrille (frece piccole), miofibrille atrofiche, depositi di adipociti (frece grandi) e collagene. (adattato da Tidholm e Jonsson, 2005).

La tipologia attenuated wavy fiber (vedi **Figura 2**) è la forma più frequente, che viene riscontrata in molte razze di taglia media, grande e gigante (inclusi alcuni soggetti di razza Boxer e Dobermann Pinscher). Essa si presenta con miocardiociti atrofici, con un diametro inferiore ai 6  $\mu\text{m}$  (fisiologicamente il diametro va dai 10 $\mu\text{m}$  ai 20 $\mu\text{m}$ ), con un aspetto ondulato, ben separati tra loro. In molti casi si può riscontrare anche un'infiltrazione diffusa di fibrosi subendocardica (Sykes et al., 2021; Tidholm & Jönsson, 2005).



**Figura 2.** Immagine al microscopio del miocardio del ventricolo sinistro di un cane affetto dalla forma attenuated wavy fiber di DCM. Le miofibrille sono più sottili del normale ed hanno un aspetto ondulato. (adattato da Tidholm e Jonsson, 2005).

## 2.5 DIAGNOSI

Lo stadio occulto della DCM generalmente si manifesta tra i cinque e i sette anni di età, ma in alcuni soggetti può svilupparsi già sin dai due anni. Per questo motivo lo screening dovrebbe essere effettuato a partire dai tre o quattro anni di età, con un controllo annuale soprattutto nei soggetti di razze predisposte, in soggetti che presentano una storia familiare di DCM e in soggetti in cui è stata riscontrata una mutazione genetica che potrebbe comportare l'insorgenza della patologia (Tidholm et al., 2001).

Per la diagnosi di DCM è necessario effettuare una visita clinica, comprendente esame obiettivo generale del soggetto e visita cardiologica. Successivamente l'iter diagnostico include l'esame radiografico, ecocardiografico ed elettrocardiografico. Come ulteriore esame di screening è possibile anche raccogliere e analizzare un campione ematico per la ricerca di biomarker come la porzione N-terminale del pro-peptide natriuretico cerebrale (NT-proBNP) o la troponina I cardiaca (cTnI). Si tratta, tuttavia, di indicatori aspecifici di disordini a carico del miocardio, motivo per cui questi valori devono essere sempre correlati con i reperti riscontrati alla visita clinica e con la diagnostica per immagini (Wess, 2022).

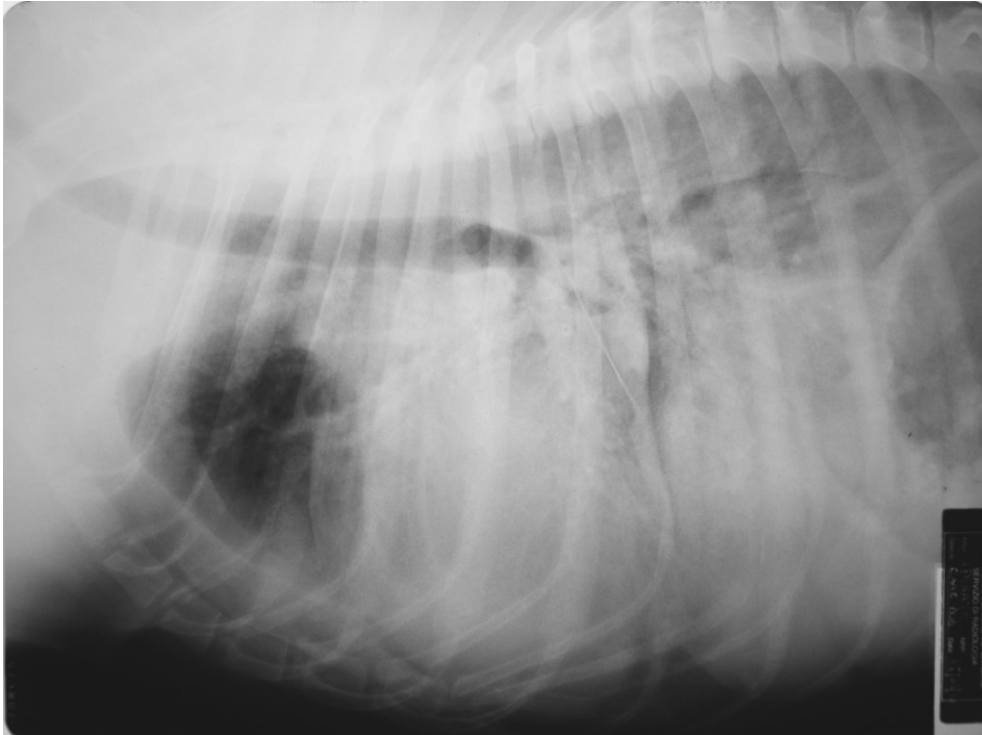
### **2.5.1 Visita clinica**

Il soggetto affetto da DCM può presentare depressione del sensorio, perdita di peso, polidipsia, intolleranza all'esercizio, tosse, tachicardia, tachipnea ed episodi sincopali. Nei casi più gravi possono essere individuati segni di CHF come dispnea, dovuta a edema polmonare e/o versamento pleurico, e distensione addominale causata da ascite (Tidholm et al., 2001).

Durante la visita clinica i principali reperti rilevati sono dispnea, presenza di un ritmo cardiaco irregolare e di una ridotta ampiezza del polso se sono presenti aritmie concomitanti. Inoltre, a volte, è possibile percepire, tramite auscultazione, un debole soffio sistolico (grado I-III/VI) ed un suono di galoppo proto-diastolico (S3), indice di un grave disaccoppiamento ventricolare (Tidholm et al., 2001; Wess, 2022).

### **2.5.2 Esame radiografico**

L'esame radiografico in cani con DCM conclamata mostra, a livello toracico, il rilievo di cardiomegalia (**Figura 1.3**), spesso con prominenza dell'atrio sinistro, congestione venosa, edema polmonare con pattern interstiziale o alveolare e, a volte, versamento pleurico e, a livello addominale, ascite. Tuttavia, questo esame ha un ruolo limitato nello screening della DCM, dato che questi ritrovamenti sono indice di una CHF ma non sono specifici per DCM (Dukes-McEwan et al., 2003; Wess, 2022).



**Figura 1.3.** *Nell'immagine una radiografia toracica in proiezione latero-laterale destra di un Dobermann con DCM ed edema polmonare cardiogeno (dall'archivio dell'UO di Cardiologia dell'Ospedale Veterinario Universitario Didattico dell'Università di Padova).*

### **2.5.3 Esame ecocardiografico**

L'ecocardiografia rappresenta l'esame gold standard non invasivo per la diagnosi di DCM. Quest'esame permette di individuare segni di disfunzione sistolica e dilatazione ventricolare sinistra, effettuando diagnosi di DCM previa esclusione di altri disordini congeniti o acquisiti che possano mimare la malattia, come, ad esempio, difetti del setto interventricolare, il dotto arterioso persistente, la displasia o la degenerazione mixomatosa della valvola mitralica (Dukes-McEwan et al., 2003; Wess, 2022). Infatti, in un soggetto affetto da DCM si osservano delle alterazioni a livello cardiaco, quali una riduzione della funzionalità contrattile del cuore, con conseguente riduzione della gittata cardiaca, ed un ingrandimento ventricolare soprattutto a carico del ventricolo sinistro, fino all'insorgenza, nei casi più gravi, di CHF. In alcuni casi possono anche presentarsi episodi di morte improvvisa. L'esame ecocardiografico prevede l'utilizzo della proiezione parasternale destra in asse lungo a quattro camere e la proiezione apicale

sinistra a quattro camere. Le camere cardiache possono essere visualizzate tramite la tecnica bidimensionale (2D) o M-mode, mentre per la valutazione del flusso si utilizza la tecnica Doppler (Wess, 2022).

La Società Europea di Cardiologia Veterinaria (ESVC) ha proposto delle linee guida per la diagnosi della DCM utilizzando l'ecocardiografia, con l'obiettivo di fornire un protocollo standardizzato per l'identificazione e la stadiazione della patologia. Queste linee guida forniscono un sistema di punteggio basato sulle dimensioni ventricolari misurate tramite ecocardiografia M-mode, geometria del ventricolo sinistro ed indici di disfunzione sistolica. Sono stati proposti dei criteri maggiori e minori per la diagnosi ed è stato stabilito che con un punteggio uguale o superiore a 6 un soggetto può essere identificato come affetto da DCM. (Dukes-McEwan et al., 2003).

Criteri maggiori proposti per la diagnosi di DCM

1. Dilatazione del ventricolo sinistro (in sistole ma anche in diastole)
2. Aumento della sfericità
3. Frazione di accorciamento <20-25% e/o frazione di eiezione del ventricolo sinistro <40%

Criteri minori proposti per la diagnosi di DCM:

1. Presenza di aritmie in razze predisposte a sviluppare DCM (Dobermann e Boxer)
2. Fibrillazione atriale
3. Aumento dell'EPSS
4. Rapporto periodo pre-eiezione (PEP) ed il tempo di eiezione (ET) (PEP:ET) aumentato
5. Frazione di accorciamento ridotta
6. Dilatazione atriale sinistra o bi-camerale

### **2.5.3.1 Volume ventricolare sinistro**

La misurazione di questo parametro può essere effettuata sia tramite l'ecocardiografia M-mode sia tramite il metodo dei dischi di Simpson (SMOD).

La tecnica SMOD (**Figura 4**) prevede di determinare il volume ventricolare tracciando il contorno della cavità nella proiezione a quattro camere. L'area delimitata viene

tagliata in una serie di “dischi” aventi tutti lo stesso spessore, perpendicolari all’asse maggiore del ventricolo sinistro. La somma dei volumi di tutte le singole parti è uguale al volume ventricolare totale. Tramite questo metodo è possibile calcolare il volume telesistolico (ESV) e telediastolico (EDV) (Chetboul et al, 2016).

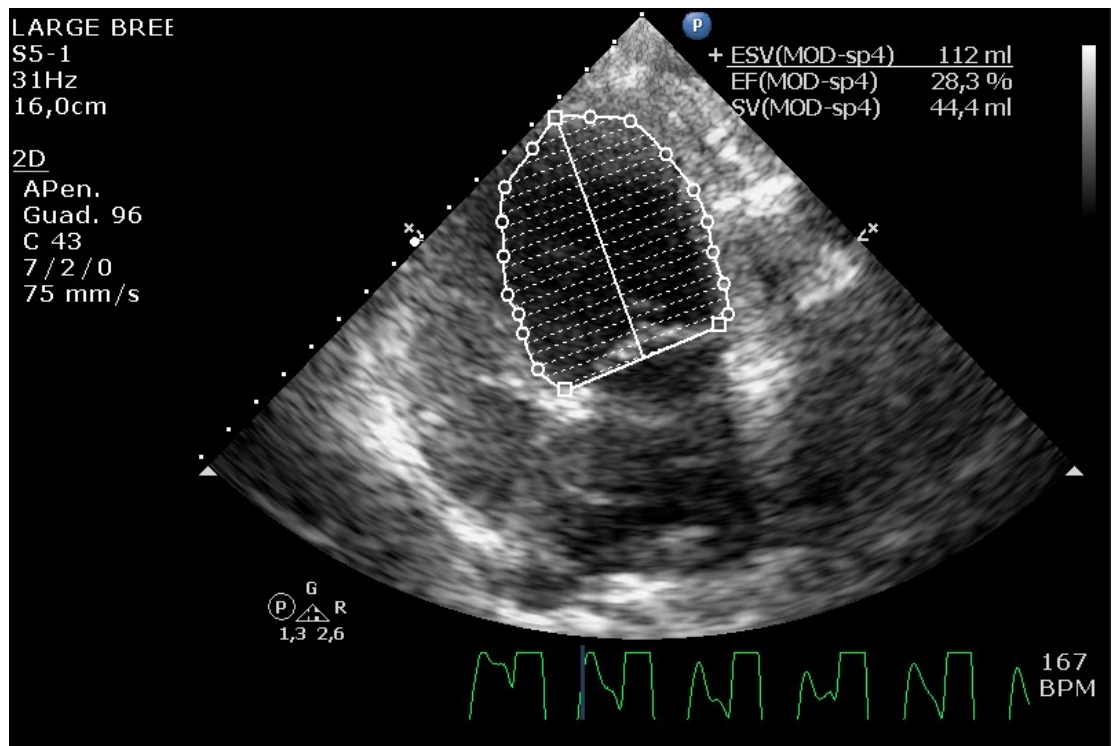
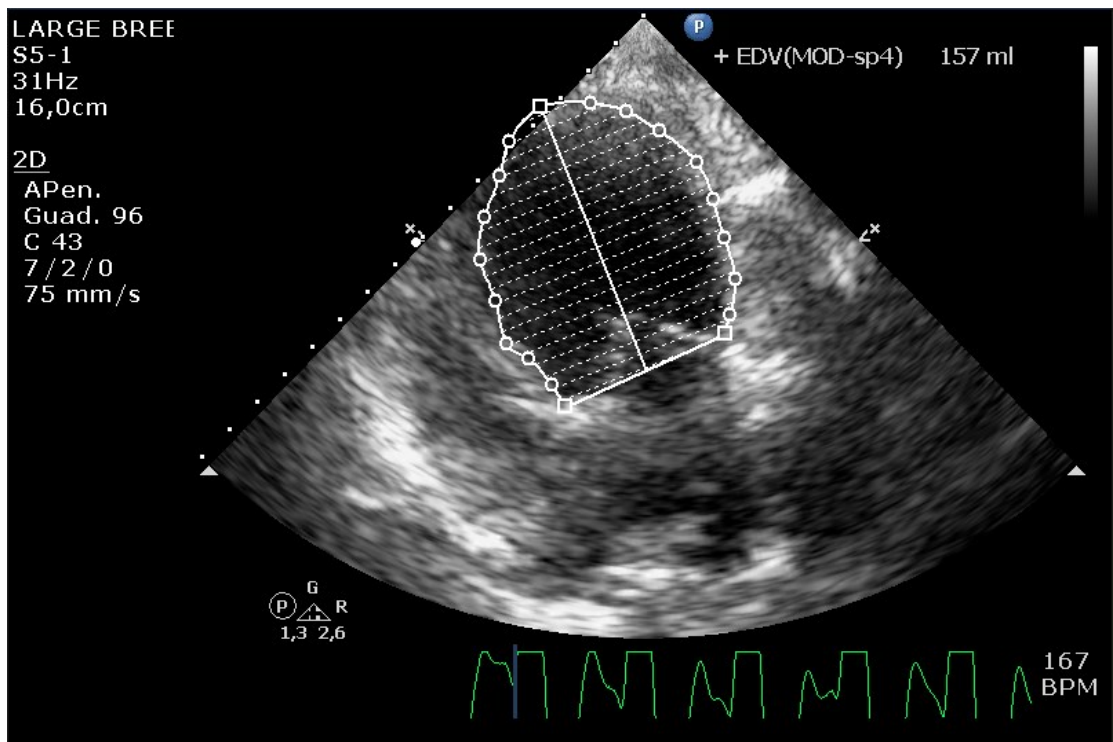
Il volume telesistolico indica il volume di sangue residuo nel ventricolo alla fine della sistole, cioè della contrazione. Esso viene misurato nel momento subito antecedente l’apertura della valvola mitralica, generalmente alla fine dell’onda T nel tracciato elettrocardiografico.

Il volume telediastolico, invece, rappresenta il volume di sangue presente nel ventricolo al termine della diastole. Viene misurato quando la valvola mitralica è ancora chiusa e il volume ha raggiunto il valore massimo, generalmente in corrispondenza dell’inizio del complesso QRS sul tracciato dell’elettrocardiogramma.

I valori ottenuti possono essere rapportati alla superficie corporea, espressa in m<sup>2</sup> e calcolata secondo la formula:

$$\text{Body surface area} = 0.201 \times \text{body weight (kg)}^{2/3}$$

Si ottengono così l’indice del volume telesistolico (ESVI) e telediastolico (EDVI), per i quali sono stati stabiliti dei valori di cut-off oltre cui viene diagnosticata la presenza di DCM: ESVI >55mL/m<sup>2</sup> e EDVI >95 mL/m<sup>2</sup> (Chetboul et al, 2016; Wess et al., 2017).



**Figura 4.** Misurazione del volume telesistolico e telediastolico del ventricolo sinistro secondo il metodo dei dischi di Simpson (SMOD) in un Boxer. (dall'archivio dell'UO di Cardiologia dell'Ospedale Veterinario Universitario Didattico dell'Università di Padova).

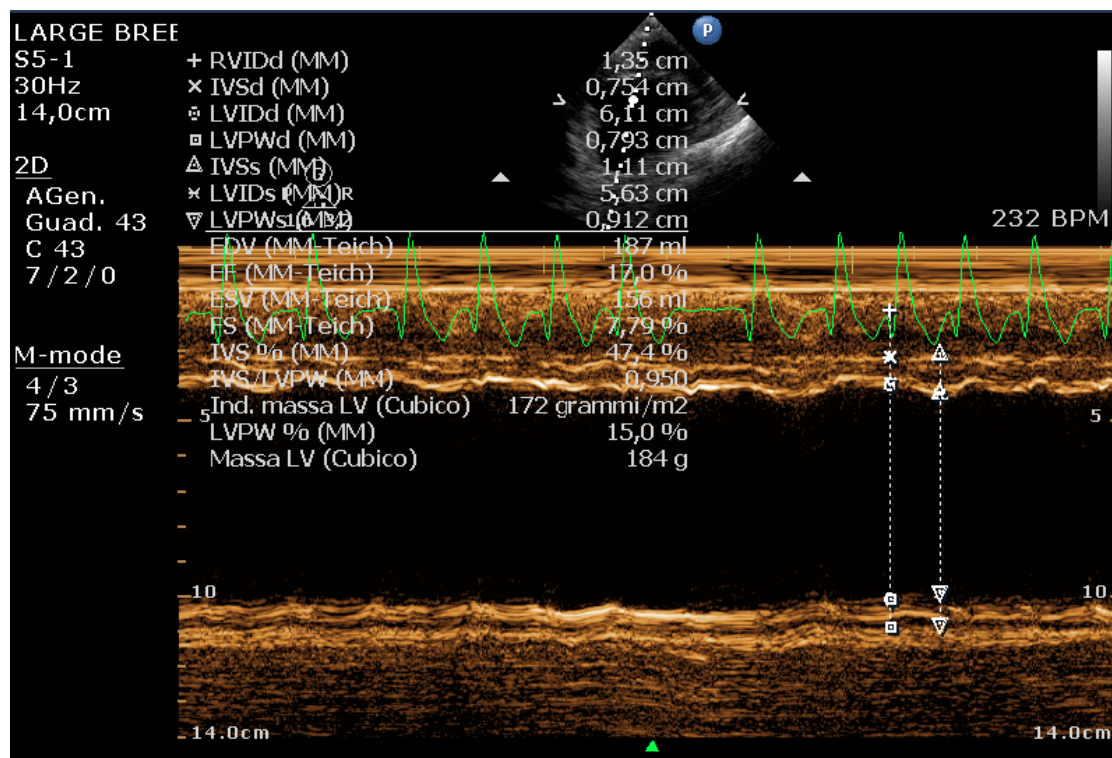


La misurazione del volume ventricolare sinistro viene effettuata anche tramite l'ecocardiografia M-mode (**Figura 5**). Esistono tre modalità differenti: la prima (descritta da G. Wess, 2010) prevede l'effettuazione della misurazione tramite la proiezione parasternale destra asse lungo a quattro camere, escludendo l'aorta; la seconda e la terza (entrambe descritte da O'Grady, 2009) impiegano la proiezione parasternale destra asse lungo inflow/outflow, con l'aorta visibile e la proiezione parasternale destra asse corto a livello delle corde tendinee, rispettivamente. Tutte e tre queste modalità consentono di misurare le dimensioni interne del ventricolo sinistro in diastole (LVDD), misurato all'inizio del complesso QRS, ed in sistole (LVSD), misurato alla fine dell'onda T. Per questi parametri sono stati individuati dei valori di cutoff oltre i quali viene diagnosticata la DCM (Wess et al., 2017).

Per la prima modalità i valori sono  $LVDD > 48\text{mm}$  (per maschi di qualsiasi peso) e  $LVDD > 46\text{mm}$  (per femmine di qualsiasi peso) oppure  $LVSD > 36\text{mm}$  (sia maschi che femmine di qualsiasi peso).

Per la seconda modalità i valori di cutoff sono  $LVDD > 0.1749 \times \text{body weight (Kg)} + 40.3\text{mm}$  e/o  $LVSD > 0.1402 \times \text{body weight (Kg)} + 26.7\text{mm}$ .

Infine, per la terza modalità i valori individuati sono  $LVSD > 0.1402 \times \text{body weight (Kg)} + 35.3\text{mm}$  (Wess et al., 2017).



**Figura 5.** Immagine ecocardiografica in modalità M-mode ottenuta in proiezione parasternale destra in asse corto a livello dei muscoli papillari. RVIDd: diametro interno del ventricolo destro in telediastole (right ventricular internal end diastolic diameter), IVSs/d: setto interventricolare in sistole/diastole (interventricular septum systolic/diastolic), LVIDs/d: diametro interno del ventricolo sinistro in telesistole/diastole (left ventricular internal diameter in systole/diastole), LVPWs/d: parete posteriore del ventricolo sinistro in telesistole o in telediastole (left ventricular posterior wall end systole/diastole), EDV: volume telediastolico (end diastolic volume), EF: frazione di eiezione (ejection fraction), ESV: volume telesistolico (end systolic volume), FS: frazione di accorciamento (fractional shortening). (dall'archivio dell'UO di Cardiologia dell'Ospedale Veterinario Universitario Didattico dell'Università di Padova).

### 2.5.3.2 Frazione di eiezione (EF)

La frazione di eiezione viene definita come il rapporto tra la gittata sistolica e il volume telediastolico. Essa rappresenta un buon indicatore della contrattilità miocardica. La misurazione di questo parametro può essere effettuata tramite il metodo dei dischi di Simpson (SMOD) modificato in proiezione apicale due o quattro camere o, quando possibile, tramite ecocardiografia tridimensionale. Un valore di EF < 40% viene considerato un cutoff per diagnosticare una disfunzione sistolica, possibile indice di DCM (Wess, 2022).

### **2.5.3.3 Frazione di accorciamento (FS)**

La frazione di accorciamento valuta la contrazione delle fibre circolari responsabili dell'accorciamento del ventricolo sinistro lungo l'asse trasverso, ed è utilizzata come indice della funzionalità sistolica. Si calcola con la formula:

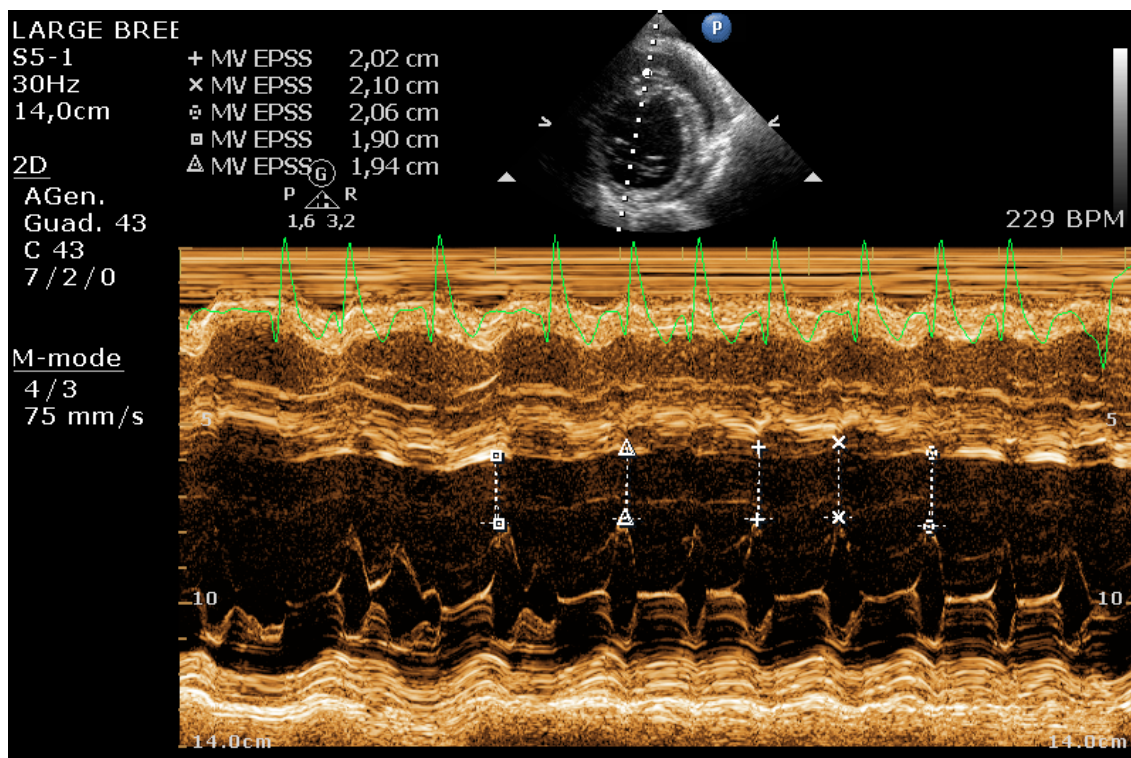
$$FS = \frac{LVDD - LVSD}{LVDD} \times 100$$

Nel cane, valori inferiori a 20-25% sono generalmente considerati indici di disfunzione sistolica, ad eccezione di alcune razze di taglia medio-grande in cui può essere fisiologico. La frazione di accorciamento è un parametro influenzato dalle condizioni di pre e post carico, oltre che dalla presenza di insufficienza della valvola mitralica; pertanto, non può essere utilizzato come unico indice per diagnosticare la presenza di DCM (Dukes-McEwan et al., 2003; Wess, 2022).

### **2.5.3.4 E-point to septal separation (EPSS)**

L'EPSS viene definito come la distanza tra il punto di massima apertura del lembo anteriore della valvola mitrale e il setto interventricolare durante la fase di riempimento rapido del ventricolo (**Figura 6**). È un parametro utilizzato per valutare il riempimento e la funzionalità ventricolare e viene misurato con la proiezione parasternale destra in asse lungo o asse corto. È negativamente correlato con la frazione di eiezione, in assenza di insufficienza aortica e mitralica (Holler & Wess, 2014).

Nel Dobermann Pinscher un EPSS > 6.5 mm può essere considerato un valore indicativo di DCM (Holler & Wess, 2014; Wess et al., 2017; Wess, 2022).



**Figura 6.** Misurazione ecocardiografica dell'E-point to septal separation (EPSS). (dall'archivio dell'UO di Cardiologia dell'Ospedale Veterinario Universitario Didattico dell'Università di Padova).

### 2.5.3.5 Indice di sfericità (SI)

L'indice di sfericità è un parametro che viene utilizzato per valutare i cambiamenti nella geometria del ventricolo sinistro man mano che, con il progredire della patologia, le camere si dilatano e il cuore diventa più sferico. Esso si calcola dividendo la lunghezza del ventricolo sinistro per la sua ampiezza, misurate in diastole. Un valore di SI  $<1.65$  è associato ad un aumento della sfericità e, conseguentemente, considerato anormale. Nel Dobermann questo valore può essere considerato un cutoff per diagnosticare la patologia (Holler & Wess, 2014; Wess et al., 2017; Wess, 2022).

### 2.5.3.6 Rapporto PEP:ET

Il periodo pre-eiezione (PEP) ed il tempo di eiezione (ET) sono due indicatori della funzionalità ventricolare sistolica. Il PEP è misurato dall'inizio del complesso QRS fino all'inizio dell'eiezione ventricolare. L'ET, invece, è misurato dall'inizio dell'eiezione ventricolare fino alla chiusura della valvola aortica. Fisiologicamente nel

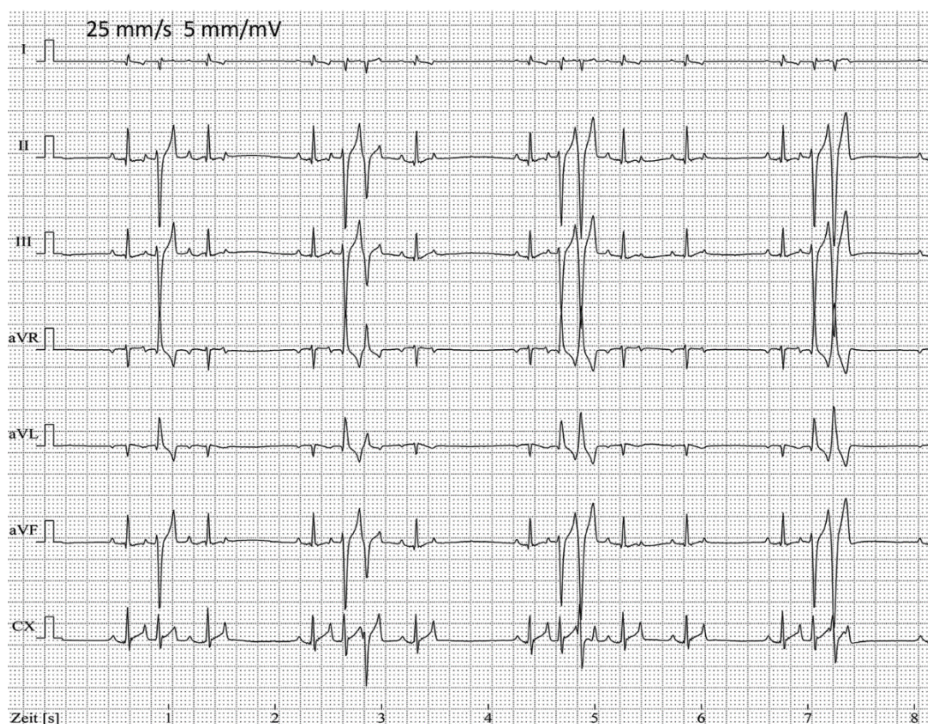
cane i valori del rapporto PEP:ET variano da 0.24 a 0.42, con valori nei cani di piccola taglia generalmente <0.3 e nei cani di grossa taglia <0.42. Un aumento di questo rapporto potrebbe essere indicativo di DCM (Bonagura,1994).

#### 2.5.4 Esame elettrocardiografico

L'esame elettrocardiografico si è dimostrato utile nella diagnosi di DCM in cani di alcune razze grandi e giganti, come Dobermann, Boxer, Irish Wolfhound e Alano. In questi soggetti diversi studi hanno dimostrato un'associazione tra aritmie, in particolare fibrillazione atriale (FA) e complessi ventricolari prematuri (VPC), e DCM. Generalmente, infatti, queste anomalie elettriche sono comunemente presenti nello stadio preclinico della patologia, in assenza di segni clinici rilevabili (Dukes-McEwan et al., 2003; Pérez et al., 2020).

I complessi ventricolari prematuri (VPC) sono depolarizzazioni ectopiche che originano prematuramente rispetto a quanto atteso con lo studio della sequenza dei precedenti intervalli R-R (**Figura 7**). Il metodo di screening ideale è il monitoraggio Holter sulle 24h, dal momento che un monitoraggio più breve potrebbe comportare un mancato rilievo delle aritmie. Tuttavia, alcuni studi dimostrano che il rilevamento, mediante tracciato elettrocardiografico sui 5 minuti, di uno o due VPC, può essere considerato un valore predittivo per il rilevamento, mediante monitoraggio Holter sulle 24h, di >100 VPC, valore che è considerato diagnostico per DCM (<50 VPC è considerato valore normale) (Pérez et al., 2020).

La Società Europea di Cardiologia Veterinaria (ESVC) ha istituito delle linee guida più specifiche per lo screening della DCM nel Dobermann Pinscher, in cui è riportato che il ritrovamento di più di 300 VPC in 24h o due registrazioni successive in un anno che mostrano tra i 50 e i 300 VPC possono essere considerate diagnostiche di DCM occulta in questa razza (Wess et al., 2017). Nel Boxer ci sono cut-off simili, in quanto la presenza di VPCs singoli in numero da 100 a 300 sulle 24h indica un sospetto di malattia, mentre la presenza di 100-300 VPCs complessi (coppia o triplete) o più di 300 VPCs sulle 24h indicano che l'animale è probabilmente affetto da DCM (Wess, 2022).



**Figura 7.** Il tracciato elettrocardiografico mostra un complesso ventricolare prematuro singolo e tre coppie in un Dobermann con DCM idiopatica. Velocità 25mm/s; taratura 5mm/mV. (adattato da G. Wess, 2022).

Il rilevamento mediante esame elettrocardiografico di VPC è utile anche per stabilire il rischio di morte cardiaca improvvisa (SCD). Si ritiene, infatti, che la SCD sia causata dalla tachicardia ventricolare, che comporta fibrillazione ventricolare e morte. Misurare il numero totale di VPCs durante il monitoraggio Holter non risulta essere statisticamente significativo per predire il rischio di SCD, mentre invece risulta utile misurare l'intervallo di accoppiamento, cercando, per esempio, di misurare la frequenza di scarica dei VPCs. L'intervallo di accoppiamento viene definito come la distanza tra l'onda R del battito che precede l'ectopia e la più ampia deflessione del complesso QRS ectopico. È stato dimostrato che un intervallo di accoppiamento con una frequenza di scarica superiore ai 260 battiti/minuto può essere un fattore predittivo per SCD (Santilli et al., 2020; Wess, 2022).

### **2.5.5 Esami del sangue**

L'analisi di un campione ematico viene considerata uno strumento aggiuntivo nello screening della DCM. Nel campione di sangue è possibile misurare, infatti, la concentrazione di biomarkers cardiaci come la porzione N-terminale del pro-peptide natriuretico cerebrale (NT-proBNP) o la troponina cardiaca (cTnI) (Wess, 2022).

#### **2.5.5.1 Porzione N-terminale del pro-peptide natriuretico cerebrale (NT-proBNP)**

La Porzione N-terminale del pro-peptide natriuretico cerebrale è una proteina di 76 amminoacidi e costituisce il precursore del peptide natriuretico cerebrale. Alcuni studi hanno dimostrato che la sua concentrazione plasmatica è significativamente più elevata in cani di razza Dobermann Pinscher affetti da DCM rispetto ai soggetti sani. Alcuni studi hanno proposto un valore di cutoff per questa molecola superiore a 550 pmol/L. Durante le analisi è importante considerare che la concentrazione plasmatica del NT-proBNP circolante può essere influenzata da patologie concomitanti quali nefropatie, ipertensione polmonare o sistemica, sepsi, ma anche un inadeguato campionamento (Wess et al., 2017; Wess, 2022).

#### **2.5.5.2 Troponina I cardiaca (cTnI)**

La troponina I cardiaca è una proteina presente a livello miocardico ed implicata nel processo della contrazione. Essa rappresenta, in uomo ed animali, un importante marker di danno miocardico a livello sanguigno. Diversi studi riportano un'elevata concentrazione plasmatica di cTnI in Dobermann affetti da DCM, con valori sempre più elevati al progredire della malattia. Il cutoff per predire la DCM in questi soggetti è >20ng/mL (Immunolite assay) oppure >0.113ng/mL (Advia Centaur TNI-Ultra assay), a seconda del tipo di test utilizzato. È importante ricordare che elevati livelli di cTnI si possono riscontrare anche in condizioni di malattie sistemiche o miocarditi; pertanto, non può essere considerato un parametro specifico per la diagnosi di DCM (Wess et al., 2017; Wess, 2022).

## 2.6 CLASSIFICAZIONE

Alcuni studi suggeriscono una possibile classificazione della patologia sulla base della progressione de segni clinici, radiografici ed ecografici della patologia (Wess, 2022). Si possono distinguere quattro stadi principali:

Lo stadio A comprende tutti quei cani di razze predisposte a sviluppare la DCM, ma che al momento presentano un cuore normale, sia dal punto di vista morfologico che elettrico. Comprende anche quei cani che presentano mutazioni che predispongono allo sviluppo della malattia, ma senza segni clinici evidenti.

Lo stadio B è caratterizzato da soggetti che presentano un'alterazione sia morfologica sia elettrica del cuore, in assenza di segni clinici di CHF. È suddiviso in stadio B1, che include cani con aritmie senza segni di insufficienza (stadio occulto), e stadio B2, che comprende cani con ingrandimento ventricolare in sistole e quindi disfunzione sistolica, associata o meno a ingrandimento ventricolare in diastole. Possono essere presenti aritmie. Questo è definito come lo stadio “manifesto” della malattia.

Lo stadio C comprende i cani dello stadio B2 ma che presentano o hanno presentato segni di CHF.

Lo stadio D si riferisce a quei cani che presentano lo stadio finale della patologia, con segni di CHF e refrattari al trattamento.

## 2.7 TRATTAMENTO

Il trattamento per cani affetti da DCM include l'utilizzo di agenti inotropi positivi, diuretici ed inibitori dell'agiotensin converting enzyme (ACE-inibitori) (Borgarelli et al., 2001; McCauley et al., 2020).

### 2.7.1 Agenti inotropi positivi

Si tratta di una categoria di farmaci che comprende diverse sostanze, tra cui i glicosidi digitalici, come la digossina, ed il pimobendan, ad oggi il più utilizzato.



La digossina agisce interferendo con l'attività della pompa Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATP-dipendente a livello miocardico, con un aumento degli ioni calcio a livello intracellulare. Il pimobendan esercita un'azione inibitoria della fosfodiesterasi di tipo III, con un conseguente aumento della concentrazione intracellulare di cAMP, ed un aumento della sensibilità al calcio da parte delle miofibrille, con un aumento proporzionale dell'attività delle pompe ATPasiche. Esercitano entrambi un effetto inotropo positivo a livello cardiaco, con un aumento della contrattilità ma, il pimobendan, a differenza della digossina, non determina un aumento del consumo d'ossigeno da parte del miocardio (Borgarelli et al., 2001).

### **2.7.2 ACE-inibitori**

Si tratta di una categoria di farmaci che comprende diversi principi attivi, quali benazepril, imidapril ed enalapril, quest'ultimo il più utilizzato. Essi agiscono inibendo l'angiotensin converting enzyme (ACE), ossia l'enzima che converte l'angiotensina I in angiotensina II. Per mezzo della loro azione viene contrastato l'effetto vasocostrittore esercitato dall'angiotensina II a seguito dell'attivazione del sistema RAAS (Borgarelli et al., 2001)

### **2.7.3 Diuretici**

Per il trattamento della DCM i diuretici più utilizzati sono lo spironolattone e la furosemide.

La furosemide è un diuretico d'ansa che esercita la sua azione inibendo l'attività della pompa che regola il meccanismo del riassorbimento del sodio-potassio-2cloro nella branca ascendente dell'ansa di Henle. Il mancato riassorbimento di questi ioni determina l'aumento della loro escrezione. Viene utilizzata nel trattamento di soggetti con CHF.

Lo spironolattone è un antagonista competitivo dell'aldosterone. Esso si lega ai recettori dell'aldosterone a livello renale, soprattutto a quelli presenti nell'ultimo tratto del tubulo distale e del dotto collettore. Conseguentemente si osserva un aumento dell'escrezione di sodio, cloruri ed acqua ed una riduzione dell'escrezione di potassio, ammonio e fosfati. Anch'esso viene utilizzato per il trattamento di CHF, dal momento che in

soggetti affetti da questa condizione si osserva un'attivazione del sistema RAAS con elevate concentrazioni di aldosterone in particolare (Simpson et al., 2021).

#### **2.7.4 Altre terapie**

Cani affetti da DCM possono sviluppare aritmie, pertanto deve essere effettuato un accurato monitoraggio tramite Holter e, eventualmente, una terapia con farmaci antiaritmici, come ad esempio bloccanti dei canali del calcio (diltiazem), bloccanti dei canali del potassio (sotalolo, amiodarone) o  $\beta$ -bloccanti (atenololo) (McCauley et al., 2020).

Inoltre, in cani con DCM di origine nutrizionale è stato dimostrato un miglioramento a seguito di integrazione nella dieta con taurina e L-carnitina (McCauley et al., 2020).

### **2.8 PROGNOSE**

I soggetti affetti da DCM possono andare incontro a morte dopo aver sviluppato progressivamente un'insufficienza cardiaca congestizia oppure possono morire a seguito di morte cardiaca improvvisa (SCD). Conseguentemente, la prognosi a lungo termine per soggetti con DCM può essere molto variabile.

I principali indicatori prognostici sono la razza, l'età del soggetto all'insorgenza della malattia, i parametri ecocardiografici riguardanti il ventricolo sinistro e la sua funzionalità, la presenza di aritmie, il grado di CHF e la presenza di edema polmonare.

I cani di razza Dobermann Pinscher generalmente sono quelli che presentano una prognosi più infausta, con un tempo medio di sopravvivenza (dalla diagnosi) che va dalle 7.4 alle 9.7 settimane (Simpson et al., 2021).

L'età del soggetto all'insorgenza della DCM è un altro parametro che può influenzare la prognosi. In cani razza Portoghese water dog esiste una forma giovanile di DCM con insorgenza poche settimane dopo la nascita. Altre razze, quali Alano e Levriero Irlandese, tendono a sviluppare la DCM a 4.8 e 4.4 anni, rispettivamente. Cani di razza Dobermann Pinscher, invece, hanno un'insorgenza della DCM più tardiva, generalmente intorno ai 7.3 anni nel maschio e 8.6 anni nella femmina (Simpson et al., 2021).

Tra i parametri ecocardiografici, il diametro interno del ventricolo sinistro in sistole (LVSD) risulta essere significativamente associato ad una prognosi infausta. Esso misura la contrattilità cardiaca, ed un aumentato diametro è indice di una contrattilità ridotta (Martin et al., 2010).

Il volume telediastolico del ventricolo sinistro corretto per la superficie corporea (LVEDV/BSA) è risultato un fattore statisticamente significativo associato alla morte cardiaca improvvisa in cani di razza Dobermann Pinscher. Infatti, ogni aumento di 50mL/m<sup>2</sup> di LVEDV/BSA comporta un aumento del rischio di SCD di 8.5 volte (Klüser et al., 2016).

Infine, la presenza di complessi ventricolari prematuri (VPC) e nel, Dobermann Pinscher, la presenza di FA sono associati ad un aumento del rischio di morte cardiaca (Martin et al., 2010; Friederich et al., 2020).

### 3. FIBRILLAZIONE ATRIALE

La fibrillazione atriale (FA) è un'aritmia cardiaca riscontrata frequentemente nell'uomo e in alcune specie animali, quali il cane ed il cavallo. In particolare, rappresenta la più comune tachiaritmia sopraventricolare nel cane. Si tratta di un disturbo del ritmo caratterizzato da un'attivazione atriale estremamente rapida e irregolare, con perdita della contrazione atriale e compromissione del riempimento ventricolare (Santilli et al., 2020). Conseguentemente è possibile osservare una riduzione della gittata cardiaca e, in ultimo, dei cambiamenti strutturali a livello del miocardio (Pedro et al., 2020b).

La FA viene distinta in tre forme principali: la forma parossistica, quando è autolimitante; la forma persistente, quando non è autolimitante ma risponde alla cardioversione elettrica o farmacologica; la forma permanente, quando persiste per lunghi periodi di tempo in pazienti in cui la cardioversione elettrica non è indicata oppure non ha avuto successo (Santilli et al., 2020). Generalmente la FA nel cane si presenta nella forma permanente, a differenza, invece, dell'uomo in cui la forma parossistica è la più frequente (Pedro et al., 2020b). La FA parossistica è stata descritta anche nel cane, ma la prevalenza non è ancora nota. Alcuni studi riportano che essa sia secondaria ad una stimolazione vagale eccessiva: la stimolazione vagale, infatti, riduce la durata del potenziale d'azione dei cardiomiociti, favorendo lo sviluppo di circuiti di rientro, alla base dell'insorgenza della patologia (Santilli et al., 2020).

La FA può essere anche distinta in primaria e secondaria. La forma primaria (*lone atrial fibrillation*, LAF) è tipica di razze di taglia grande o gigante, come Alano, San Bernardo, Terranova, Dogue de Bordeaux e Levriero Irlandese, e si presenta in assenza di patologie cardiostrutturali. Il fatto che la FA venga più comunemente diagnosticata in cani di taglia grande e gigante indica che le maggiori dimensioni dell'atrio, fisiologicamente presenti in questi soggetti, possano predisporre allo sviluppo della patologia. La forma secondaria, invece, è la più frequente e, al contrario della primaria, si manifesta in soggetti affetti da concomitanti patologie cardiache che inducono una dilatazione atriale, come la DCM, la MMVD, le miocarditi, il dotto

arterioso pervio, i difetti del setto interventricolare, la displasia mitralica e tricuspide e la stenosi aortica o polmonare in fase terminale (Santilli et al., 2020).

Recentemente in cani di razza Levriero Irlandese è stata studiata una modalità di trasmissione autosomica dominante, con un'ereditabilità stimata del 69% (Fousse et al., 2019; Pedro et al., 2020b).

In alcuni soggetti affetti da FA sono state riscontrate alterazioni quali cardiomiopatie subcliniche, fibrosi atriale e infiltrazione adiposa, ma non è ancora ben chiaro se queste modificazioni siano una causa o una conseguenza dell'aritmia (Vollmar et al., 2019a; Pedro et al., 2020b). Inoltre, nei soggetti di razza Boxer cambiamenti ultrastrutturali e istologici dell'atrio sono considerati un substrato per lo sviluppo di aritmie.

### **3.1 EPIDEMIOLOGIA**

La FA rappresenta circa il 33% di tutte le aritmie riscontrate nel cane. La prevalenza complessiva di questa patologia è dello 0.15%, con variazioni dallo 0.04% in cani di razza Barboncino nano all'8.9% in cani di razza Levriero irlandese (Pedro et al., 2020b).

Il peso e la taglia sono correlati positivamente con lo sviluppo di FA. Infatti, cani di razza grande e gigante, quali per esempio il Levriero Irlandese, il Dobermann, l'Alano, il Terranova, il Rottweiler ed il Labrador Retriever sono più comunemente colpiti da FA. Questo è dovuto al fatto che questi soggetti presentano un atrio di dimensioni maggiori che favorisce lo sviluppo di FA e, in aggiunta, sono spesso affetti da DCM, la più comune malattia cardiaca sottostante in soggetti con FA secondaria. Meno frequentemente si riscontra FA in cani di piccola taglia, in cui la patologia cardiaca sottostante che predispone allo sviluppo di questa aritmia è generalmente la MMVD (Pedro et al., 2020b).

Inoltre, è stato dimostrato che nei soggetti di taglia grande l'insorgenza della FA è più precoce e la frequenza di sviluppo è maggiore rispetto a cani di taglia piccola (Westling et al., 2008).

Infine, la prevalenza della FA nella popolazione canina è influenzata anche dall'età e dal sesso. Infatti, i cani maschi adulti e/o anziani sono generalmente più frequentemente colpiti (Westling et al, 2008). La FA è rara, infatti, in soggetti di età inferiore ai 12 mesi e l'insorgenza più precoce è stata riportata in cani di taglia grande ad 1-2 anni di età (Gelzer & Kraus, 2004).

## **3.2 FISIOPATOLOGIA**

I meccanismi elettrofisiologici alla base dell'induzione e del mantenimento della FA sono le depolarizzazioni atriali premature derivanti da focolai ectopici e il fenomeno del rientro (Pedro et al., 2020b; Premont et al., 2022).

### **3.2.1 Focolai ectopici atriali**

I focolai ectopici sono generalmente localizzati nelle propaggini di miocardio atriale che si insinuano nella parete delle vene polmonari. Essi possono insorgere in seguito ad un aumento dell'automatismo a livello atriale o nel nodo senoatriale, oppure in seguito ad attività "triggered". Quest'ultime sono secondarie ad un'alterazione dell'omeostasi del calcio e possono comportare l'insorgenza di anomale depolarizzazioni della membrana cellulare sia nella parte finale del potenziale d'azione, ossia in fase 3 (dette post-depolarizzazioni precoci), sia durante la ripolarizzazione, ossia in fase 4 (dette post-depolarizzazioni tardive) (Pedro et al., 2020b)

### **3.2.2 Rientro**

Il rientro è un fenomeno che si verifica quando un'area del miocardio che si trova ancora in condizioni di refrattarietà funge da via di trasmissione dell'impulso per ri-eccitare il cuore, purché riacquisti l'eccitabilità prima della depolarizzazione completa del tessuto miocardico rimanente. L'impulso elettrico può così diventare un substrato per le tachiaritmie se persiste all'interno del circuito di rientro. Il circuito è costituito da due rami;  $\alpha$  e  $\beta$ . Il ramo  $\alpha$  conduce l'impulso in senso anterogrado, il ramo  $\beta$  lo conduce in senso retrogrado.

Il fenomeno del rientro determina una completa perdita di contrattilità atriale coordinata, comportando una diminuzione della gittata cardiaca (fino al 25%). Inoltre, queste onde elettriche atriali colpiscono il nodo atrioventricolare in modo casuale, determinando una frequenza di scarica ventricolare irregolare (Santilli et al., 2020).

### **3.2.3 Rimodellamento atriale**

Anche il rimodellamento atriale svolge un ruolo importante nell'insorgenza e mantenimento della FA. Si possono distinguere tre tipologie di rimodellamento: elettrico, contrattile e strutturale.

Il rimodellamento elettrico si osserva generalmente già nei primi minuti di insorgenza della patologia, quando aumentano la richiesta di ossigeno a livello miocardico e il flusso coronarico, determinando un innalzamento della concentrazione citoplasmatica di sodio e calcio, nonché un aumento di quest'ultimo a livello del reticolo sarcoplasmatico (Pedro et al., 2020b). Questo contribuisce ad una riduzione della durata del potenziale d'azione atriale a seguito della down-regulation dei canali del  $Ca^{2+}$  di tipo L, favorendo fenomeni di rientro e stabilizzando l'aritmia. (Brundel et al., 2005; Pathak et al., 2013; Decloedt et al., 2020).

Il rimodellamento contrattile si verifica generalmente entro qualche giorno dall'insorgenza della FA ed è caratterizzato da una riduzione della contrattilità atriale, a seguito di una riduzione delle correnti degli ioni calcio. La perdita della funzionalità contrattile atriale aumenta la compliance atriale, con dilatazione dell'atrio e stabilizzazione dell'aritmia (Decloedt et al., 2020; Pedro et al., 2020b).

Il rimodellamento strutturale risulta essere la forma di rimodellamento che maggiormente facilita l'induzione e la perpetuazione della FA. Questa forma di rimodellamento include cambiamenti macroscopici, come la dilatazione atriale, e microscopici, quali ipertrofia cellulare, de-differenziazione dei cardiomiociti, apoptosi e sviluppo di fibrosi interstiziale. La dilatazione atriale favorisce lo sviluppo di fenomeni di rientro e, conseguentemente, il mantenimento della FA (Brundel et al., 2005; Eckstein et al., 2008; Pathak et al., 2013). La fibrosi, invece, può essere in realtà sia una concausa che una conseguenza della FA. Secondo alcuni studi, infatti, la fibrosi sembra avere un effetto pro-aritmogeno, in quanto determina una separazione tra i fasci

muscolari atriali, causando un rallentamento localizzato della conduzione che stabilizza il fenomeno del rientro e promuove la fibrillazione (Brundel et al., 2005). Secondo altri studi, invece, la fibrosi può essere una conseguenza della FA a seguito di un aumento della frequenza di risposta ventricolare. È stato dimostrato, infatti, che la fibrosi procede più lentamente in soggetti con FA in cui è stato indotto un blocco atrio-ventricolare (Decloedt et al., 2020; Pedro et al., 2020b).

A seguito di cardioversione verso il ritmo sinusale, i fenomeni di rimodellamento possono essere reversibili. In particolare, il rimodellamento elettrico è quello che più facilmente si risolve a differenza, invece, di quello contrattile. Non è ancora certa la reversibilità del rimodellamento strutturale (Pedro et al., 2020b).

### **3.2.4 Insufficienza cardiaca congestizia**

La FA e la CHF sono due condizioni strettamente associate e contribuiscono l'una allo sviluppo e al mantenimento dell'altra. Diversi studi, sia nell'uomo che nel cane, hanno incentrato il proprio interesse nel capire quale tra queste due condizioni si sviluppi per prima, ma la questione non è ancora risolta. Questo ha comportato, quindi, la nascita di due ipotesi: la prima, secondo cui è la FA ad indurre lo sviluppo di CHF e, viceversa, la seconda, in cui soggetti affetti da CHF possono sviluppare anche FA (Prabhu et al., 2017; Pedro et al., 2020b).

#### **3.2.4.1 Sviluppo di CHF in soggetti con FA**

Secondo questo modello la FA contribuisce allo sviluppo di CHF determinando un peggioramento della funzionalità sistolica ventricolare sinistra. Infatti, in soggetti affetti da FA l'attivazione rapida ed irregolare dell'atrio predispone ad una perdita di funzionalità sistolica atriale, nonché ad una alterazione della trasmissione dell'impulso atrio-ventricolare con contrazione rapida ed irregolare dei ventricoli e riduzione della gittata cardiaca.

Diversi studi hanno dimostrato che questi meccanismi hanno un forte impatto negativo sulla funzionalità sistolica del ventricolo sinistro. In particolare, un aumento della frequenza ventricolare può determinare stress emodinamico, attivazione di meccanismi neuroendocrini, rimodellamento cardiaco e, nei casi più gravi, induzione



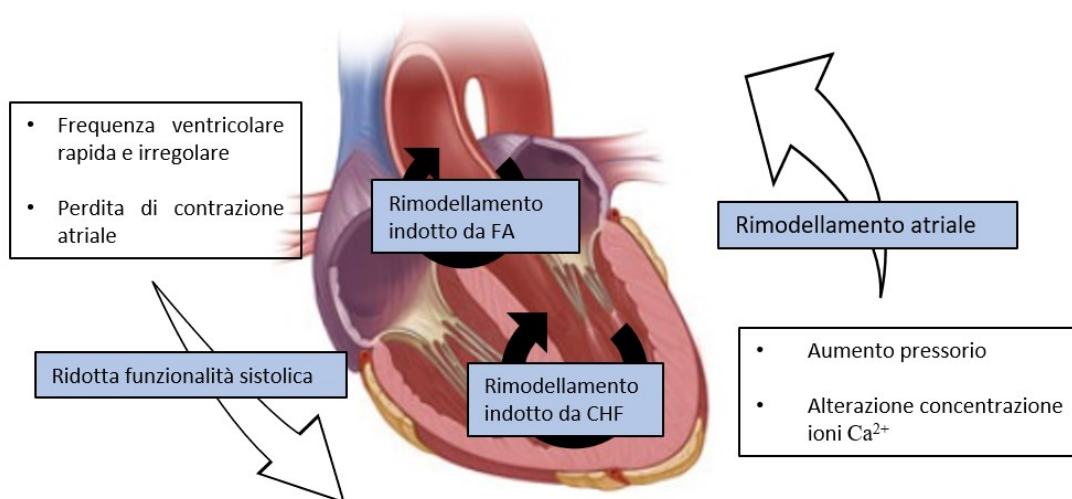
dell'apoptosi, morte cellulare e sviluppo di fibrosi. Allo stesso modo, anche l'irregolarità della frequenza ventricolare può determinare effetti emodinamici ed indurre disfunzione ventricolare sinistra. Infine, diversi studi hanno dimostrato l'esistenza di una forte correlazione tra la funzionalità sistolica atriale e la gittata cardiaca (**Figura 8**). Conseguentemente, in soggetti affetti da FA la perdita di capacità contrattile atriale comporta una riduzione dello svuotamento dell'atrio sinistro e del riempimento del ventricolo sinistro e riduzione della gittata cardiaca (Prabhu et al., 2017; Pedro et al., 2020b).

#### **3.2.4.2 Sviluppo di FA i soggetti con CHF**

Secondo questo modello, la disfunzione sistolica ventricolare sinistra è associata a cambiamenti elettrici e strutturali dell'atrio che favoriscono lo sviluppo di FA. Infatti, la disfunzione del ventricolo sinistro comporta un aumento della pressione telediastolica ventricolare che si riflette con un aumento pressorio anche a livello dell'atrio sinistro. Di conseguenza, l'elevata pressione aumenta lo stress sulla parete atriale con attivazione del sistema RAAS, alterazione dell'omeostasi del  $Ca^{2+}$  e attivazione di pathways pro-fibrotici e pro-infiammatori (Prabhu et al., 2017; Pedro et al., 2020b)

In particolare, l'attivazione del sistema RAAS comporta a sua volta l'attivazione di diversi meccanismi che, nel complesso, promuovono l'ipertrofia dei miociti, l'apoptosi cellulare e lo sviluppo di fibrosi. Inoltre, a seguito di disordini relativi all'omeostasi del  $Ca^{2+}$ , si riscontra una riduzione dell'espressione di canali del  $Ca^{2+}$  di tipo L, con conseguente aumento del  $Ca^{2+}$  intracellulare, riduzione della durata del potenziale d'azione atriale e predisposizione allo sviluppo di circuiti di rientro (Brundel et al., 2005; Prabhu et al., 2017; Pedro et al., 2020b).

Infine, per quanto riguarda la relazione tra FA ed infiammazione, questa non è ancora del tutto chiarita. Infatti, alcuni studi hanno dimostrato l'impatto dell'infiammazione sul rimodellamento atriale elettrico e strutturale, giustificando quindi lo sviluppo di FA in associazione con lo stato pro-infiammatorio tipico della CHF o a seguito di miocarditi e pericarditi. Tuttavia, recenti studi hanno dimostrato la presenza di un aumento di marker sierici infiammatori anche dopo l'insorgenza di FA (Pedro et al., 2020b).



**Figura 8.** La figura mostra i fattori che contribuiscono allo sviluppo e al mantenimento della FA e della CHF. (adattato da Prabhu et al, 2017).

### 3.3 FATTORI DI RISCHIO

#### 3.3.1 FA nell'uomo

Nell'uomo la FA è una delle aritmie cardiache di più frequente riscontro, con una prevalenza attuale stimata del 2-4% circa (Hindricks et al., 2021). Numerosi studi hanno indagato i principali fattori di rischio per la FA nell'uomo. Dai risultati è emerso che la genetica, l'età, lo stile di vita, l'obesità, eventuali patologie concomitanti e le patologie cardiovascolari hanno un impatto sullo sviluppo di FA. Infatti, la FA ha una forte componente ereditaria che è indipendente dalle condizioni cardiovascolari concomitanti ed ha un'incidenza strettamente associata con l'età ed il sesso: soggetti maschi adulti e/o anziani sono più frequentemente colpiti rispetto a soggetti giovani e donne (Hindricks et al., 2021; Pathak et al., 2013). Anche lo stile di vita, come per esempio il fumo, l'eccessivo consumo di alcool o un'attività fisica molto ridotta o eccessiva, risultano essere dei fattori di rischio per FA. Tra le patologie cardiache che risultano associate ad un possibile sviluppo di FA nell'uomo si riscontrano malattie valvolari, difetti del setto interatriale, ischemie e insufficienza cardiaca. Infine, è stato dimostrato che l'obesità ed il diabete mellito possono predisporre all'insorgenza di FA,

inducendo rimodellamento cardiaco strutturale, funzionale ed elettrico (Pathak et al., 2013).

### **3.3.2 FA nel cane**

La FA nel cane è spesso secondaria a diverse patologie cardiache, tra cui principalmente la DCM e la MMVD, ma anche endocarditi, malattie cardiache congenite quali dotto arterioso persistente, displasia delle valvole mitralica o tricuspide e stenosi subaortica (Guglielmini et al., 2000). In cani affetti da queste patologie si riscontra rimodellamento e dilatazione dell'atrio sinistro, che rappresentano uno dei principali fattori di rischio per lo sviluppo di FA. Studi più recenti hanno riportato come ulteriori fattori di rischio per lo sviluppo di questa aritmia anche la presenza di CHF, una ridotta frazione di accorciamento del ventricolo sinistro e la presenza di dilatazione dell'atrio destro (Friederich et al., 2020; Guglielmini et al., 2020). Inoltre, come riportato in altri studi, anche la presenza di insufficienza cardiaca destra (R-CHF) in cani affetti da DCM o MMVD è risultata essere un fattore di rischio per lo sviluppo di FA (Ward et al., 2019; Friederich et al., 2020). Diversi meccanismi, infatti, possono contribuire allo sviluppo di R-CHF in soggetti affetti da patologie cardiache che interessano primariamente il cuore sinistro. Alcuni soggetti, per esempio, possono sviluppare varianti di queste patologie che colpiscono direttamente il cuore destro. In altri casi, invece, soggetti in stadio particolarmente avanzato della malattia, che presentano un'elevata pressione nell'atrio sinistro e insufficienza cardiaca sinistra (L-CHF), possono anche sviluppare ipertensione polmonare post-capillare, con conseguente aumento della pressione anche a livello dell'atrio destro e sviluppo di R-CHF (Ward et al., 2019; Friederich et al., 2020).

Nel cane un altro fattore di rischio per lo sviluppo di FA risulta essere il peso corporeo. Infatti, soggetti con peso corporeo elevato hanno un maggior rischio di sviluppare FA rispetto a soggetti con peso corporeo più basso (Guglielmini et al., 2000). In particolare, è dimostrato che soggetti con peso superiore a 20 Kg affetti da MMVD hanno un rischio 5.8 volte maggiore di sviluppare questa aritmia rispetto a cani di peso inferiore (Borgarelli et al., 2006b).

Inoltre, a differenza dell'uomo, in cui l'aumentare dell'età aumenta il rischio di sviluppare FA, nel cane l'età non sembra avere un ruolo predisponente (Guglielmini et al., 2020).

### 3.4 SEGNI CLINICI

In soggetti di taglia grande e gigante la FA primaria può essere un reperto occasionale, in assenza di segni clinici. Al contrario, nel caso della FA secondaria, i segni clinici che il soggetto presenta dipendono dalla gravità della malattia cardiaca sottostante. Gli animali affetti possono presentare letargia, debolezza, intolleranza all'esercizio, anoressia, dispnea, tachipnea e tosse. Questi segni clinici possono essere dovuti all'aritmia stessa oppure alla concomitante presenza di CHF. Inoltre, alcuni cani possono presentare episodi sincopali (Gelzer & Kraus, 2004; Pedro et al., 2020a).

### 3.5 DIAGNOSI

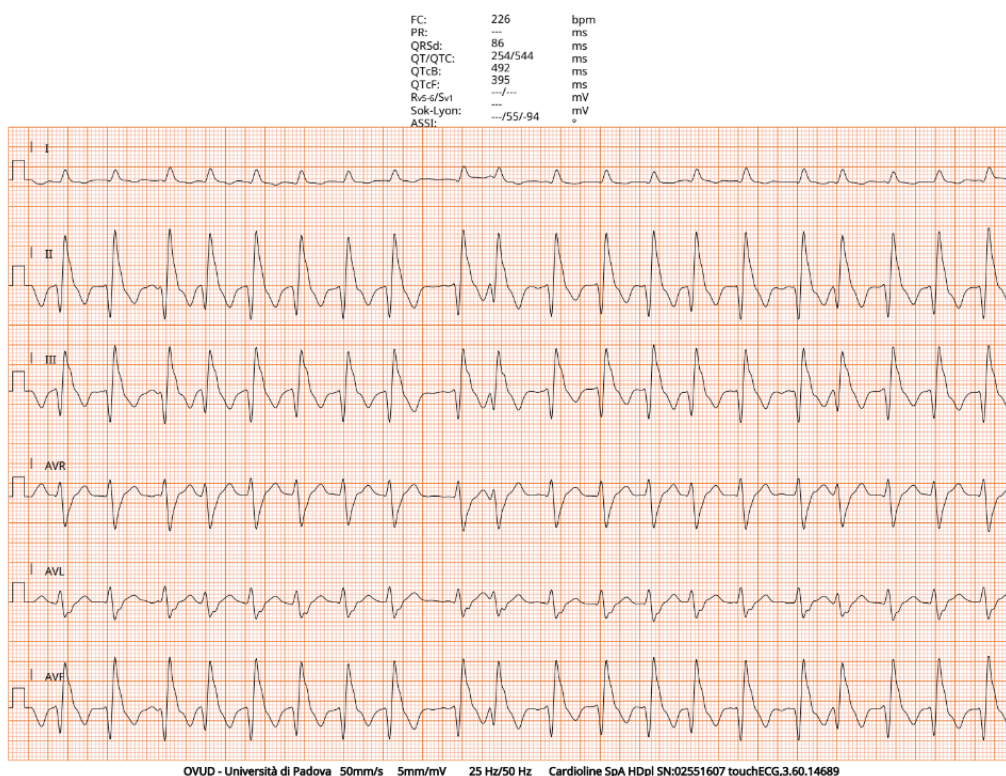
Il sospetto di FA può insorgere durante l'esame clinico quando il soggetto presenta una frequenza cardiaca aumentata (130-260bpm) con battito aritmico, intensità del polso variabile e presenza all'auscultazione di un soffio cardiaco, quest'ultimo indice di una possibile patologia cardiaca in atto, ma non necessariamente presente in corso di FA (Pedro et al., 2020a).

L'esame gold standard per effettuare la diagnosi di FA è l'esame elettrocardiografico (**Figura 9**). Le caratteristiche elettrocardiografiche della FA includono una frequenza cardiaca aumentata, intervalli R-R irregolari, assenza di onde P e loro sostituzione con le onde f (onde di fibrillazione), complessi QRS stretti ( $\leq 70$  ms nel cane e  $\leq 40$  ms nel gatto), almeno che non vi siano disturbi nella conduzione ventricolare (Santilli et al., 2020).

Il ritrovamento di intervalli R-R irregolari è fondamentale per la diagnosi di FA. Questa irregolarità è dovuta al numero variabile di impulsi atriali che attraverso il nodo atrioventricolare raggiunge i ventricoli e dipende dalla refrattarietà del nodo stesso. Quest'ultima a sua volta dipende dalla conduzione decrementale fisiologica, che si

verifica quando il potenziale d'azione riesce a depolarizzare sempre meno il tessuto eccitabile adiacente man mano che l'impulso si propaga nella profondità dell'area giunzionale. Conseguentemente, gli impulsi atriali più deboli si esauriscono nell'atrio stesso, causando un prolungamento della refrattarietà della struttura nodale e un ritardo o un blocco della conduzione anterograda dell'onda successiva (Santilli et al., 2020).

La presenza di onde f indica l'attività di fibrillazione dell'atrio. Si tratta di onde a morfologia e voltaggio variabili con frequenza di 400-600 bpm, continue, visibili più facilmente nella derivazione V1 (Santilli et al., 2020; Schroeder, 2021). I complessi QRS presentano morfologia e durata normale, almeno che non siano presenti alterazioni nella conduzione intraventricolare (ad esempio un blocco di branca) o una marcata dilatazione ventricolare. In particolare, quanto un intervallo R-R lungo è seguito da un intervallo R-R breve, l'ultimo complesso QRS presenta una morfologia a blocco di branca destro (fenomeno di Ashman) (Pedro et al., 2020a; Santilli et al., 2020; Schroeder, 2021).



**Figura 9.** FA in un cane con frequenza cardiaca di 226 bpm. Velocità 50 mm/s, taratura 5mm/mV. (dall'archivio dell'UO di Cardiologia dell'Ospedale Veterinario Universitario Didattico dell'Università di Padova).

Altri esami che possono essere effettuati sono l'esame ecocardiografico e radiografico. Il primo viene eseguito per valutare la presenza di rimodellamento cardiaco strutturale, con dilatazione atriale e/o ventricolare, e la funzionalità ventricolare sinistra, indici di una patologia cardiaca congenita o acquisita sottostante, distinguendo così soggetti con FA primaria o secondaria. L'esame radiografico del torace viene effettuato in presenza di sospetto di CHF per valutare la silhouette cardiaca e l'eventuale presenza di edema polmonare e/o versamento pleurico (Menaut et al., 2005; Gelzer & Kraus, 2004; Pedro et al., 2020a).

### **3.6 TERAPIA**

Esistono due approcci per il trattamento della FA: il controllo della frequenza (*rate control*) e il controllo del ritmo (*rhythm control*). Nel primo caso l'obiettivo è quello di ridurre la frequenza di risposta ventricolare; nel secondo caso, invece, l'obiettivo è determinare la conversione da FA a ritmo sinusale. Nell'uomo sono stati effettuati vari studi per verificare quale delle due strategie avesse un miglior impatto sul tempo di sopravvivenza, ed è stato dimostrato che entrambe migliorano i segni clinici, ma nessuna delle due migliora la sopravvivenza. Nel cane, al contrario, generalmente prevale l'utilizzo del controllo della frequenza piuttosto che del ritmo. Questa decisione si basa sia sulla presenza e sulla gravità di malattie cardiache secondarie, considerando che, se il soggetto presenta una patologia cardiaca in stadio avanzato, il controllo del ritmo potrebbe non essere effettuabile, sia per il fatto che il controllo della frequenza ha un successo più rapido rispetto al controllo del ritmo (Pedro et al., 2020a).

#### **3.6.1 Rate control**

Si tratta di una tecnica che prevede l'utilizzo di farmaci antiaritmici per ridurre la frequenza cardiaca. Si utilizza generalmente in soggetti che presentano patologie cardiache in stadio avanzato o CHF grave, dal momento che in questi casi la frequenza di risposta ventricolare è maggiore, probabilmente per un aumento del tono del sistema nervoso simpatico. Inoltre, un aumento della frequenza cardiaca in soggetti con FA comporta una riduzione della gittata cardiaca ed aumenta la probabilità di insorgenza di

CHF. Per questo motivo, questo trattamento con farmaci antiaritmici dovrebbe essere accompagnato da un trattamento per la patologia cardiaca sottostante o per CHF se presente. Stabilizzare la CHF e utilizzare i farmaci antiaritmici come i  $\beta$ -bloccanti e i bloccanti dei canali del calcio dovrebbe, infatti, ridurre la frequenza cardiaca, garantendo più tempo per il riempimento ventricolare, e migliorare quindi la gittata cardiaca, riducendo la congestione.

È stato dimostrato che soggetti con una frequenza cardiaca  $<125$  bpm, ottenuta tramite monitoraggio Holter sulle 24h, presentano un tempo di sopravvivenza maggiore rispetto a cani con frequenza cardiaca  $>125$ bpm. Inoltre, per ogni riduzione di 10 bpm nella frequenza cardiaca il rischio di mortalità diminuisce del 29%. Pertanto, un valore di frequenza cardiaca  $<125$  bpm può essere considerato un cut-off per decidere se utilizzare la tecnica del controllo della frequenza (Pedro et al., 2018, 2020a).

I farmaci più utilizzati sono i bloccanti dei canali del calcio, la digossina, i  $\beta$ -bloccanti e i bloccanti dei canali del potassio, o una loro combinazione.

Tra i bloccanti dei canali del calcio il più utilizzato è il diltiazem. Si tratta di una molecola che esercita un effetto cronotropo negativo, tramite un rallentamento nella propagazione dell'impulso a livello del nodo atrioventricolare, con conseguente riduzione degli impulsi che giungono ai ventricoli. La somministrazione di diltiazem per via endovenosa (EV) agisce più velocemente rispetto alla formulazione orale, ma a causa dei suoi effetti va utilizzato con cautela in soggetti affetti da DCM. In caso di somministrazione per via EV si utilizzano dosaggi minimi e si associa una terapia con pimobendan.

La digossina è una molecola la cui azione aumenta il tono parasimpatico, riducendo la velocità di conduzione a livello del nodo atrioventricolare. Essa blocca la pompa ATPasica  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , determinando un accumulo di calcio intracellulare e, conseguentemente, una maggior forza di contrazione. Quest'effetto inotropo positivo non deve però essere eccessivo, perché potrebbe risultare pro-aritmico e indurre aritmie ventricolari. È importante monitorare la concentrazione plasmatica di digossina a sette giorni dopo l'inizio del trattamento, per individuare un'eventuale tossicità. Questa si manifesta più frequentemente in soggetti affetti da ipokalemia, dal momento che la digossina si lega ai siti del potassio presenti sulle pompe ATP-asiche, e se il potassio ha

una bassa concentrazione, il farmaco si legherà più facilmente a questi recettori (Jung et al., 2016). In caso di tossicità è necessario sospendere la terapia per qualche giorno per poi riprenderla a dosi più basse. La digossina può essere utilizzata anche in associazione con il diltiazem o con altri bloccanti dei canali del calcio (Pedro et al., 2020a).

Nella categoria dei  $\beta$ -bloccanti vi rientra l'atenololo. Esso permette di controllare la frequenza di risposta ventricolare, riducendo la velocità di conduzione a livello del nodo atrioventricolare; tuttavia, a causa del suo effetto inotropo negativo va utilizzato con cautela.

Tra i bloccanti dei canali del potassio vi rientrano il sotalolo, l'amiodarone ed il dronedarone. Il sotalolo se usato singolarmente generalmente presenta un modesto effetto sul controllo della frequenza cardiaca, ma può essere utilizzato in associazione con un bloccante dei canali del calcio. L'amiodarone determina un minor effetto inotropo negativo rispetto al sotalolo, motivo per cui viene considerato una scelta migliore in soggetti che presentano una disfunzione sistolica. Tuttavia, gli effetti nel controllo della frequenza cardiaca sono limitati, e può avere alcuni effetti collaterali, come epatopatie e disfunzione della tiroide. Nell'uomo al posto dell'amiodarone si utilizza il dronedarone, con minor effetti collaterali. Tuttavia, questo farmaco non è ancora stato testato nel cane affetto da AF (Pedro et al., 2020a).

In alternativa all'utilizzo di farmaci antiaritmici nel cane sono state studiate delle tecniche alternative per ridurre la frequenza di risposta ventricolare. Tra queste troviamo la stimolazione vagale e l'ablazione del nodo atrioventricolare. Si tratta, tuttavia, di opzioni molto costose e complicate, generalmente non effettuate (Gelzer & Kraus, 2004; Pedro et al., 2020a).

### **3.6.2 Rhythm control**

L'obiettivo di questa tecnica è quello di effettuare una cardioversione, elettrica o farmacologica, per ristabilire il normale ritmo sinusale. Generalmente viene utilizzata in soggetti che non presentano patologie cardiache secondarie o, qualora queste fossero presenti, di lieve entità. Il mantenimento di un ritmo sinusale è fondamentale per garantire un'adeguata gittata cardiaca e per prevenire il rimodellamento atriale, determinando una maggiore tolleranza all'esercizio e una qualità di vita migliore.



Tuttavia, questa tecnica non garantisce un miglioramento nei tempi di sopravvivenza e la morbilità è potenzialmente più alta con un maggior rischio di ospedalizzazione (Pedro et al., 2020a).

La cardioversione farmacologica viene effettuata generalmente tramite l'utilizzo di farmaci antiaritmici come l'amiodarone, ma si può utilizzare anche la lidocaina in soggetti affetti da FA vago-mediata. Più frequentemente viene effettuata la cardioversione elettrica, che può essere transtoracica o intracardiaca. La cardioversione transtoracica è quella più frequentemente utilizzata nel cane. Il soggetto, in anestesia generale, viene posto in decubito dorsale o laterale, e vengono applicate le piastre del defibrillatore sul torace, ai due lati del cuore. È possibile utilizzare un defibrillatore monofasico (richiede 5-10 J/Kg) o bifasico (più recente, richiede 0.5-3 J/Kg). Alcuni autori suggeriscono un pretrattamento con amiodarone per os per 2-3 settimane, per ridurre il rischio di FA recidive. Infatti, in presenza di una patologia cardiaca concomitante il 50% dei soggetti ha presentato delle recidive entro due mesi dal trattamento; mentre il 70% di cani senza patologie cardiache ha avuto ricadute dai 3 ai 5 mesi post-trattamento (Pariat, 2017; Pedro et al., 2020a)

### **3.7 PROGNOSI**

Nell'uomo la FA è associata ad un maggior rischio di morbilità e mortalità a causa, per esempio, di morte cardiaca improvvisa (SCD), insufficienza cardiaca ed ictus. Infatti, la FA è una delle maggior cause di ictus, a seguito della ridotta contrattilità atriale che può predisporre a fenomeni di tromboembolismo (Kirchhof et al., 2016; Waldmann et al., 2020).

Per quanto riguarda il cane, diversi studi epidemiologici hanno dimostrato che la FA è associata ad un elevato rischio di mortalità e che soggetti con FA secondaria hanno un tempo medio di sopravvivenza più basso rispetto a cani con FA primaria (Westling et al., 2008). In particolare, la presenza di FA è associata con un minor tempo di sopravvivenza in soggetti con MMVD e CHF e con un aumentato rischio di morte cardiaca e ridotta sopravvivenza in cani di razza Dobermann con DCM e CHF (Jung et al., 2016; Friederich et al., 2020). Infine, come nell'uomo, anche nel cane vari studi

hanno dimostrato una correlazione tra la FA e SCD. Infatti, la prevalenza di SCD in cani con FA è risultata significativamente elevata rispetto al gruppo di controllo con ritmo sinusale. Inoltre, una minor età alla diagnosi, la presenza di dilatazione atriale e la presenza di episodi sincopali in anamnesi, sono risultati fattori associati con un maggior rischio di SCD in cani con FA (Borgeat et al., 2021).

## 4. CONTRIBUTO SPERIMENTALE

### 4.1 OBIETTIVO DELLO STUDIO

La FA è la tachiaritmia sopraventricolare di più frequente riscontro sia nell'uomo che nel cane.

Numerosi studi effettuati negli ultimi anni in medicina umana hanno individuato alcuni fattori di rischio per lo sviluppo di questa aritmia. In particolare, è stato evidenziato come la genetica, lo stile di vita, l'obesità ed eventuali patologie concomitanti, come il diabete, aumentino il rischio di sviluppare FA (Hindricks et al., 2021; Pathak et al., 2013). Inoltre, è stato dimostrato che anche il rilevamento di concomitanti patologie cardiovascolari responsabili di rimodellamento cardiaco, quali ad esempio malattie valvolari, difetti del setto interatriale o insufficienza cardiaca, rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo di FA (Pathak et al., 2013).

Anche nell'ambito della medicina veterinaria sono stati effettuati degli studi con l'obiettivo di ricercare risultati analoghi per quanto riguarda gli animali d'affezione. Ad oggi, come nell'uomo, il principale fattore di rischio per lo sviluppo di FA nel cane è rappresentato dalla presenza di dilatazione dell'atrio sinistro indotto da patologie cardiache concomitanti, come principalmente MMVD e DCM, ma anche endocarditi, malattie cardiache congenite quali dotto arterioso persistente, displasia delle valvole mitralica o tricuspide e stenosi subaortica (Guglielmini et al., 2000). Ulteriori studi hanno individuato come altri fattori di rischio il peso corporeo del soggetto, la presenza di CHF, una ridotta frazione di accorciamento del ventricolo sinistro e la presenza di dilatazione dell'atrio destro (Friederich et al., 2020; Guglielmini et al., 2000). Ad oggi, tuttavia, la maggior parte degli studi in medicina veterinaria ha incentrato il proprio interesse sulla prevalenza, l'eziologia e la rilevanza clinica di questa aritmia in cani di razza Levriero Irlandese (Vollmar et al., 2019a), ma nessuno studio ha mai indagato specificatamente sui fattori di rischio per lo sviluppo di FA in una popolazione eterogenea di cani di razze diverse con DCM in diversi stadi della malattia.

Il presente studio è stato condotto in modo retrospettivo raccogliendo i dati di una popolazione di cani di proprietà di razze differenti con diagnosi ecocardiografica di DCM e confrontando diversi parametri clinici ed ecocardiografici, con l'obiettivo di identificare i fattori di rischio per lo sviluppo di FA in una popolazione eterogenea di cani affetti da DCM.

## **4.2 MATERIALI E METODI**

### **4.2.1 Animali**

Il presente studio retrospettivo multicentrico è stato condotto raccogliendo dati di cani con diagnosi ecocardiografica di DCM provenienti dai database di cinque centri cardiologici specialistici, quali il dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università di Padova, dell'Università di Bologna, dell'Università di Perugia e dell'Università di Paraná e l'Istituto Veterinario di Novara, nel periodo compreso tra Gennaio 2018 e Dicembre 2021.

La diagnosi di DCM è stata effettuata tramite esame ecocardiografico utilizzando cut-off specifici di razza in cani Dobermann e Boxer, mentre per i soggetti di altre razze sono stati utilizzati i diametri interni del ventricolo sinistro normalizzati e la frazione di accorciamento. In particolare, nei cani di razza Dobermann è stata effettuata la diagnosi di DCM quando LVDDn e LVSDn eccedevano i  $55\text{mL/m}^2$  e  $95\text{mL/m}^2$  rispettivamente (Wess et al., 2017). Nel Boxer, è stata diagnosticata DCM quando LVDD era  $>4,8\text{cm}$ , LVSD  $>3,3\text{ cm}$  e la frazione di accorciamento (FS)  $<21\%$ , in assenza di altre patologie cardiache evidenti ( Meurs et at., 2013). Nei soggetti di altre razze la diagnosi di DCM è stata fatta quando LVDDn era  $>1.63\text{ cm}$  e LVSDn  $>0,92\text{cm}$  e la frazione di accorciamento  $<20\%$  in assenza di lesioni delle valvole atrio-ventricolari (Bonagura & Visser, 2022; Wess, 2022).

Soggetti affetti da DCM sono stati classificati sulla base della presenza o meno di segni clinici di CHF (DCM conclamata e occulta rispettivamente), come ad esempio tachipnea, difficoltà respiratoria e distensione addominale. La CHF è stata distinta in CHF sinistra, destra o biventricolare (Ward et al., 2019).

La presenza di FA è stata diagnosticata utilizzando almeno una delle seguenti tecniche: registrazione elettrocardiografica di almeno tre minuti con uno strumento apposito o osservazione del tracciato elettrocardiografico durante l'esame ecocardiografico. In particolare, è stata fatta diagnosi di FA durante l'esame ecocardiografico quando è stato rilevato un ritmo irregolarmente irregolare, con complessi QRS stretti, assenza di onde P e assenza dell'onda A registrata con la misurazione in modalità M-mode della valvola mitralica e con l'utilizzo del Doppler spettrale durante la valutazione del flusso trans-mitralico.

A seguito della diagnosi i soggetti sono stati divisi in due gruppi: cani con o senza FA. In quest'ultimo gruppo sono stati inclusi anche cani con ritmo sinusale o con altre aritmie cardiache. Sono stati esclusi dallo studio soggetti in cui non è stata effettuata la valutazione del ritmo cardiaco e con una diagnosi dubbia di malattia cardiaca o soggetti con altre malattie cardiache congenite o acquisite. Inoltre, sono stati esclusi soggetti con sospetto di miocarditi e di cardiomiopatia tachicardia-indotta. La diagnosi di miocardite è stata considerata come la più probabile quando i livelli ematici della troponina I cardiaca (cTnI), misurata con un test ad alta sensibilità, erano >1,0 ng/mL (Lakhtir et al., 2020). Infine, sono stati inclusi cani con sospetto di cardiomiopatia nutrizionale ed ipotiroidismo, purché quest'ultimi fossero stabili al momento del reclutamento.

#### **4.2.2 Esame ecocardiografico**

L'esame ecocardiografico è stato eseguito da operatori esperti, utilizzando le modalità di analisi bidimensionale (2D), M-mode ed eco-Doppler, su animali svegli, con un ecografo equipaggiato con sonde e con registrazione simultanea del tracciato elettrocardiografico.

Per ogni paziente sono stati valutati diversi parametri ecocardiografici, quali:

- Diametro telesistolico del ventricolo sinistro normalizzato per il peso corporeo (LVSDn)
- Diametro telediastolico del ventricolo sinistro normalizzato per il peso corporeo (LVDDn)
- Frazione di accorciamento (FS)

- Diametro dell'atrio sinistro (LA)
- Diametro dell'aorta (Ao)
- Rapporto tra il diametro dell'atrio sinistro e il diametro dell'aorta (LA:Ao)
- Dilatazione dell'atrio destro
- Velocità dell'onda E del flusso transmitralico (E<sub>max</sub>)
- Velocità del getto rigurgitante attraverso la valvola tricuspide

Il diametro telediastolico e telesistolico del ventricolo sinistro è stato misurato a partire da immagini in modalità M-mode ottenute in proiezione parasternale destra in asse corto a livello delle corde tendinee. Le dimensioni ottenute sono state poi trasformate usando il metodo allometrico per ottenere le misure normalizzate alla superficie corporea del soggetto (LVSD<sub>n</sub> e LVDD<sub>n</sub>) (Visser et al., 2019).

La frazione di accorciamento (FS) è stata calcolata utilizzando la seguente formula:

$$FS = \left[ \frac{LVDD - LVSD}{LVDD} \right] \times 100$$

Il diametro dell'atrio sinistro (LA) e dell'aorta (Ao) sono stati misurati tramite la modalità 2D in proiezione parasternale destra in asse corto a livello della base del cuore in diastole precoce (primo *frame* dopo la chiusura della valvola aortica). Successivamente i valori ottenuti sono stati rapportati tra loro (LA:Ao).

La dilatazione dell'atrio destro è stata identificata tramite comparazione soggettiva con le dimensioni dell'atrio sinistro ottenute tramite misurazione in modalità bidimensionale in asse lungo.

Il flusso sanguigno transmitralico è stata valutato in proiezione apicale sinistra a quattro camere utilizzando la modalità Doppler pulsato ed è stata misurata la velocità di picco del flusso sanguigno in diastole precoce (onda E).

Infine, è stata valutata l'eventuale presenza di rigurgito tricuspide e, quando riscontrata, ne è stata misurata la velocità massima ricorrendo alla modalità Doppler continuo.

Ogni parametro ecocardiografico riportato sui referti ed utilizzato poi per l'analisi statistica è stato ottenuto dalla media di almeno tre o cinque misurazioni ripetute, a seconda che i soggetti fossero senza o con FA rispettivamente, effettuate a partire dalle immagini acquisite durante l'esame ecocardiografico.

#### **4.2.3 Analisi statistica**

L'analisi statistica dei dati è stata effettuata tramite l'utilizzo di alcuni *software* statistici disponibili in commercio (IBM SPSS Statistics per Windows, Versione 24.0. Armonk, NY: IBM Corp.; MedCalc Statistical Software versione 16.4.3, MedCalc Software, Ostenda, Belgio).

L'analisi statistica effettuata ha incluso diversi parametri. I parametri demografici e clinici considerati sono stati la razza, il sesso, l'età, il peso corporeo, la presenza e la tipologia di CHF, la presenza di una terapia farmacologica al momento dell'arruolamento nello studio e la presenza di malattie concomitanti. Per quanto riguarda la razza, sono state considerate alcune categorie: Alano, Dobermann, Labrador Retriever ed altre razze. La CHF è stata distinta in sinistra, destra e biventricolare. Per quanto riguarda le variabili ecocardiografiche, sono stati inclusi nell'analisi parametri come il diametro dell'atrio sinistro, il rapporto LA:Ao, LVDDn, LVSDn, la frazione di accorciamento e la velocità massima dell'onda E. Inoltre, è stata anche analizzata la presenza o assenza di dilatazione dell'atrio destro e di rigurgito tricuspideale.

La normalità della distribuzione delle variabili continue considerate è stata valutata tramite il test di Shapiro Wilk. Per ogni variabile con distribuzione normale è stata riportata la media e la deviazione standard. Le variabili categoriche, invece, sono state presentate come frequenza e percentuale.

È stato quindi effettuato un confronto dei parametri clinici ed ecocardiografici tra il gruppo di soggetti affetti da FA ed il gruppo di soggetti non affetti per indagare la presenza di differenze statisticamente significative per quanto riguarda i diversi parametri clinici ed ecocardiografici considerati. L'analisi è stata condotta utilizzando il test del t di Student per le variabili continue e lo Z-test a due proporzioni per le variabili categoriche. È stata considerata una significatività statistica per valori di  $P < 0,05$ .

Sono state infine studiate le correlazioni tra le variabili cliniche ed ecocardiografiche considerate per lo sviluppo di FA. È stata effettuata un'analisi di regressione univariata e multivariata per stimare l'*odds ratio* (OR) con un intervallo di confidenza (CI) del 95% dello sviluppo di FA. Le variabili risultate significativamente associate con la FA ( $P < 0,05$ ) nell'analisi univariata sono state inserite nell'analisi finale multivariata. Inoltre, per le variabili continue che hanno mostrato una correlazione significativa con lo sviluppo di FA nell'analisi univariata, quali, il peso corporeo, il diametro dell'atrio sinistro, il diametro dell'aorta, il rapporto LA:Ao, e la velocità massima dell'onda E, è stata effettuata un'analisi tramite le curve ROC (*Receiver Operating Characteristic*), per valutare l'accuratezza di queste variabili nel predire lo sviluppo di FA. In particolare, l'area sotto la curva (AUC), con un CI del 95%, così come la sensibilità, la specificità ed il rapporto di verosimiglianza positivo e negativo, sono stati calcolati a diversi cut-off. Sia per l'analisi univariata che per l'analisi multivariata sono stati considerati statisticamente significativi valori di  $P < 0,05$ .

## **4.3 RISULTATI**

### **4.3.1 Animali**

All'inizio dello studio sono stati identificati 126 cani con diagnosi ecocardiografica di DCM. Di questi, tuttavia, 31 cani sono stati esclusi per mancanza di compliance con i criteri ecocardiografici, mentre altri 6 cani sono stati esclusi a causa dell'elevata concentrazione di troponina I cardiaca (cTnI). Pertanto, i cani inclusi definitivamente nelle analisi sono stati 89, di cui 71 maschi (80%) e 18 femmine (20%).

La popolazione era costituita da 19 razze differenti, tra cui 39 Dobermann (44%), 11 Labrador Retriever (12%), 8 Alani (9%), 6 meticci (7%), 4 Boxer (5%), 3 Cane Corso (3%), 3 Cocker Spaniel (3%) e 3 Pastore Tedesco (3%). Altre razze erano rappresentate da due cani o meno.

I soggetti avevano un'età media di  $93 \pm 32$  mesi (considerando un range da 24 a 154 mesi). Il peso corporeo medio era di  $40 \pm 13$  Kg, con solo 3 cani (3%) di peso inferiore ai 20Kg. È stata registrata la presenza di CHF in 73 cani (82%), di cui 39 (53%) avevano CHF sinistra, 11 (15%) CHF destra e 23 (32%) CHF biventricolare. Di



questi 73 soggetti, 39 cani (44%) stavano ricevendo una o più terapie farmacologiche per il controllo della CHF e 25 soggetti (28%) presentavano altre patologie non cardiache in concomitanza. Inoltre, la frequenza cardiaca registrata era di  $158 \pm 45$  bpm. Per quanto riguarda i parametri ecocardiografici, i diametri dell'atrio sinistro e della radice aortica erano di  $4,91 \pm 1,16$  cm e  $2,48 \pm 0,46$  cm, rispettivamente. Il rapporto LA:Ao era di  $2,00 \pm 0,45$ . Per quanto riguarda i diametri interni del ventricolo sinistro, LVDDn era di  $2,07 \pm 0,25$  cm, mentre LVSDn era di  $1,29 \pm 0,17$  cm. La frazione di accorciamento era di  $13,56 \pm 4,84$  % e la velocità di picco dell'onda E di  $1,08 \pm 0,39$  m/s. Infine, la presenza di dilatazione dell'atrio destro e di rigurgito tricuspide è stata riscontrata in 37 cani (42%) e 52 cani (58%) rispettivamente.

La presenza di FA era stata diagnosticata in 39 cani (44%), mentre 29 soggetti (33%) avevano mantenuto un ritmo sinusale. I 21 cani rimanenti (24%) avevano altre tipologie di aritmie, tra cui aritmia ventricolare (18 cani, 20%), altre aritmie sopraventricolari diverse da FA (2 cani, 2%) e un blocco atrio-ventricolare di II° (1 cane, 1%).

In particolare, la FA era stata riscontrata in 13 soggetti di razza Dobermann Pinscher (33%), 7 di razza Alano (18%), 3 di razza Labrador Retriever (8%) e 16 di altre razze (41%). Di questi soggetti con FA 35 erano maschi (90%) e 4 erano femmine (10%). L'età media era di  $99 \pm 30$  mesi e il peso corporeo medio era di  $46 \pm 13$  Kg. In questo gruppo, in 37 soggetti (95%) era stata riscontrata la presenza di CHF, di cui 14 cani con CHF sinistra (38%), 8 cani con CHF destra (22%) e 15 cani con CHF biventricolare (40%). Di questi 37 soggetti, 20 (51%) stavano ricevendo una terapia farmacologica per il controllo di CHF e 10 cani (26%) presentavano una malattia concomitante non cardiaca. Inoltre, soggetti affetti da FA presentavano una frequenza cardiaca di  $193 \pm 31$  bpm.

Nella **Tabella 1** sono riportate le variabili sopra citate prese in considerazione per questo studio. In particolare, sono state messe a confronto le variabili riguardanti il gruppo con FA e quelle del gruppo senza FA, per evidenziare le differenze significative tra i due. Nella prima colonna viene riportata il parametro considerato, nella seconda colonna si riportano la media e la deviazione standard per le variabili con distribuzione normale, la frequenza o la percentuale per le variabili categoriche. Nella terza e quarta

colonna sono riportati i valori riguardanti, rispettivamente, la popolazione affetta e non affetta da FA, che poi sono state messi a confronto per individuare differenze significative tra i due gruppi.

Per quanto riguarda i parametri clinici, nel gruppo con FA il numero di cani di razza Alano era risultato significativamente elevato rispetto al gruppo senza FA ( $P = 0,013$ ). Inoltre, nei soggetti con FA anche il peso corporeo era risultato significativamente più elevato ( $P < 0,001$ ). In aggiunta, la presenza di insufficienza cardiaca (CHF) e, in particolare, di CHF sinistra, era risultata significativamente maggiore nel gruppo di pazienti affetti da FA ( $P = 0,012$  e  $P = 0,013$ , rispettivamente). Infine, la frequenza cardiaca era risultata significativamente più alta nel gruppo di soggetti affetti da FA rispetto al gruppo senza fibrillazione atriale ( $P < 0,001$ ).

Per quanto riguarda i parametri ecocardiografici, tra le variabili continue, il diametro dell'atrio sinistro, il diametro dell'aorta ed il loro rapporto erano risultati significativamente più elevati nei soggetti affetti da FA ( $P < 0,001$ ;  $P = 0,001$  e  $P = 0,015$  rispettivamente). Inoltre, i soggetti affetti da FA presentavano la velocità di picco dell'onda E significativamente più alta ( $P = 0,014$ ). Tra le variabili categoriche, la presenza di ingrandimento dell'atrio destro e di rigurgito tricuspide era risultata significativamente più alta nei soggetti con FA ( $P < 0,001$  e  $P = 0,013$ , rispettivamente). L'età media non differiva tra i due gruppi ( $P = 0,132$ ).

Variabile	Categoria	Totale	Gruppo	Gruppo	P value
		(N. = 89)	con FA (N. = 39)	senza FA (N. = 50)	
		Numero (%), media $\pm$ SD	Numero (%), media $\pm$ SD	Numero (%), media $\pm$ SD	
Razza	Alano	8 (9,0)	7 (18,0)	1 (2,9)	0,013
	Dobermann	39 (43,8)	13 (33,3)	26 (52,9)	0,122
	L. Retriever	11 (12,4)	3 (7,7)	8 (16,0)	0,274
	Altre razze	31 (34,8)	16 (41,0)	15 (30,0)	0,390
Sesso	M/F	71/18 (79,8/20,2)	35/4 (89,7/10,3)	36/14 (72,0/28,0)	0,072
Età (mesi)	media $\pm$ SD	93 $\pm$ 32	99 $\pm$ 30	88 $\pm$ 33	0,132
Peso (kg)	media $\pm$ SD	40 $\pm$ 13	46 $\pm$ 13	35 $\pm$ 10	< 0,001
CHF	Tutti i tipi	73 (82,0)	37 (94,9)	36 (72,0)	0,012
	L-CHF	39 (53,4)	14 (37,8)	25 (69,5)	0,013
	R-CHF	11 (15,1)	8 (21,6)	3 (8,3)	0,112
	B-CHF	23 (31,5)	15 (40,6)	8 (22,2)	0,152
Malattie concomitanti	Sì/No	25/64 (28,1/71,9)	10/29 (25,6/74,4)	15/35 (30,0/70,0)	0,829
Terapia farmacologica all'arruolamento	Sì/No	39/50 (43,8/56,2)	20/19 (51,3/48,7)	19/31 (38,0/62,0)	0,299
Frequenza cardiaca (bpm)	media $\pm$ SD	158 $\pm$ 45	193 $\pm$ 31	131,06 $\pm$ 34,32	< 0,001
LA (cm)	media $\pm$ SD	4,91 $\pm$ 1,16	5,6 $\pm$ 0,93	4,37 $\pm$ 1,04	< 0,001
Ao (cm)	media $\pm$ SD	2,48 $\pm$ 0,46	2,67 $\pm$ 0,45	2,34 $\pm$ 0,42	0,001
LA:Ao	media $\pm$ SD	2,00 $\pm$ 0,45	2,13 $\pm$ 0,4	1,90 $\pm$ 0,46	0,015
LVDDn	media $\pm$ SD	2,07 $\pm$ 0,25	2,05 $\pm$ 0,24	2,08 $\pm$ 0,25	0,511
LVSDn	media $\pm$ SD	1,29 $\pm$ 0,17	1,27 $\pm$ 0,17	1,30 $\pm$ 0,18	0,465
FS (%)	media $\pm$ SD	13,56 $\pm$ 4,84	12,67 $\pm$ 5,26	14,25 $\pm$ 4,4	0,126
E mitral (m/s)	media $\pm$ SD	1,08 $\pm$ 0,39	1,19 $\pm$ 0,41	0,98 $\pm$ 0,36	0,014
RAE	Sì/No	37/52 (41,6/58,4)	25/14 (64,1/35,9)	12/38 (24,0/76,0)	< 0,001
TR	Sì/No	52/37 (58,4/41,6)	29/10 (74,4/25,6)	23/27 (46,0/54,0)	0,013

**Tabella 1.** Dati clinici ed ecocardiografici ottenuti da una popolazione di 89 cani affetti da DCM divisi in due gruppi sulla base della presenza o assenza di FA. I dati sono riportati come

media e deviazione standard (SD), numero (n) e percentuale (%). Abbreviazioni: N: numero di animali; M: maschio, F: femmina; FA: fibrillazione atriale; CHF: insufficienza cardiaca congestizia (congestive heart failure) LA: diametro atrio sinistro (left atrial diameter); Ao: diametro della radice aortica (aortic diameter); LA:Ao: rapporto tra diametro dell'atrio sinistro e diametro della radice aortica (left atrial diameter to aortic diameter); LVDDn: diametro diastolico del ventricolo sinistro normalizzato per il peso corporeo (left ventricular diastolic diameter normalized to body weight); LVSDn: diametro sistolico del ventricolo sinistro normalizzato per il peso corporeo (left ventricular systolic diameter normalized to body weight); FS: frazione di accorciamento (fractional shortening); E mitral: velocità massima dell'onda E transmitralica (mitral valve maximal E wave velocity); RAE: ingrandimento dell'atrio destro (right atrial enlargement); TR: rigurgito tricuspide (tricuspid regurgitation).

#### 4.3.2 Analisi univariata e multivariata

Nella **Tabella 2** sono riportati i risultati dell'analisi univariata. Per ognuna delle variabili considerate sono riportati l'Odds ratio ed un intervallo di confidenza del 95% (95% CI). Inoltre, viene riportato anche il valore di P per attestare il livello di significatività statistica (considerando  $P < 0,05$ ). Infine, viene riportato il valore di chi quadrato (*Chi-square*) per confermare la validità dell'ipotesi statistica.

Questa analisi statistica ha dimostrato che la presenza di FA era positivamente correlata con la razza Alano, rispetto al Dobermann e al Labrador Retriever ( $P=0,019$  e  $P=0,021$  rispettivamente), con il sesso maschile ( $P=0,046$ ), con il peso corporeo ( $P<0,001$ ), con la presenza di CHF ( $P=0,013$ ), con il diametro dell'atrio sinistro e dell'aorta ( $P<0,001$  e  $P=0,002$  rispettivamente), con il rapporto LA:Ao ( $P=0,019$ ), con la velocità di picco dell'onda E ( $P=0,019$ ) e con la presenza di dilatazione dell'atrio destro e di rigurgito tricuspide ( $P<0,001$  e  $P=0,008$  rispettivamente).

Variabile	Chi-square	Odds ratio	95% CI	P value
Razza	7,79	NA	NA	0,050
Dobermann vs Alano	5,53	0,07	0,01-0,64	0,019
Labrador retriever vs Alano	5,35	0,05	0,01-0,64	0,021
Altre razze vs Alano	2,78	0,15	0,02-1,39	0,095

Sesso (maschio)	3,97	3,40	1,02-11,35	0,046
Età (mesi)	2,26	1,01	1,00-1,02	0,133
Peso corporeo (kg)	12,96	1,09	1,04-1,14	<0,001
Terapia farmacologica all'arruolamento	1,75	1,79	0,75-4,28	0,186
Malattie concomitanti	0,20	0,80	0,31-2,06	0,650
CHF	6,22	7,19	1,52-33,93	0,013
LA (cm)	18,82	3,94	2,12-7,34	<0,001
Ao (cm)	9,55	5,92	1,92-18,26	0,002
LA:Ao	5,54	3,43	1,23-9,56	0,019
LVDDn	0,27	0,56	0,10-3,11	0,507
LVSDn	0,54	0,40	0,03-4,68	0,461
FS (%)	2,32	0,93	0,85-1,02	0,127
E mitral (m/s)	5,50	4,34	1,27-14,82	0,019
RAE	13,58	5,66	2,25-14,21	<0,001
TR	6,98	3,40	1,37-8,45	0,008

**Tabella 2.** Risultati dell'analisi univariata che mostrano l'associazione tra il rischio di sviluppo di FA in 89 cani affetti da DCM. . I dati sono riportati come media e deviazione standard (SD), numero (n) e percentuale (%). Abbreviazioni: CHF: insufficienza cardiaca congestizia (congestive heart failure); LA: diametro atrio sinistro (left atrial diameter); Ao: diametro della radice aortica (aortic diameter); LA:Ao: rapporto tra diametro dell'atrio sinistro e diametro della radice aortica (left atrial diameter to aortic diameter); LVDDn: diametro diastolico del ventricolo sinistro normalizzato per il peso corporeo (left ventricular diastolic diameter normalized to body weight); LVSDn: diametro sistolico del ventricolo sinistro normalizzato per il peso corporeo (left ventricular systolic diameter normalized to body weight); FS: frazione di accorciamento (fractional shortening); E mitral: velocità massima dell'onda E transmitralica

(mitral valve maximal E wave velocity); RAE: ingrandimento dell'atrio destro (right atrial enlargement); TR: rigurgito tricuspitale (tricuspid regurgitation).

Successivamente è stata svolta l'analisi multivariata, i cui risultati sono riportati nella **Tabella 3**. Anche in questo caso viene riportato l'*odds ratio* con un intervallo di confidenza del 95% e il Chi quadrato per verificare la validità dell'ipotesi statistica.

Tra le variabili risultate significative nell'analisi univariata, soltanto per due di queste è stata confermata la significatività statistica anche nell'analisi multivariata: il diametro dell'atrio sinistro (OR= 3,58, 95% CI 1,87-6,87; P<0,01) e la presenza di ingrandimento dell'atrio destro (OR= 4,02, 95% CI 1,35-11,97; P=0,013), che risultano, pertanto, fattori di rischio indipendenti per lo sviluppo di FA in soggetti affetti da DCM.

Variabile	Chi-square	Odds ratio	95%CI	P value
LA (cm)	14,8	3,58	1,87-6,87	<0,001
RAE	6,23	4,02	1,35-11,97	0,013

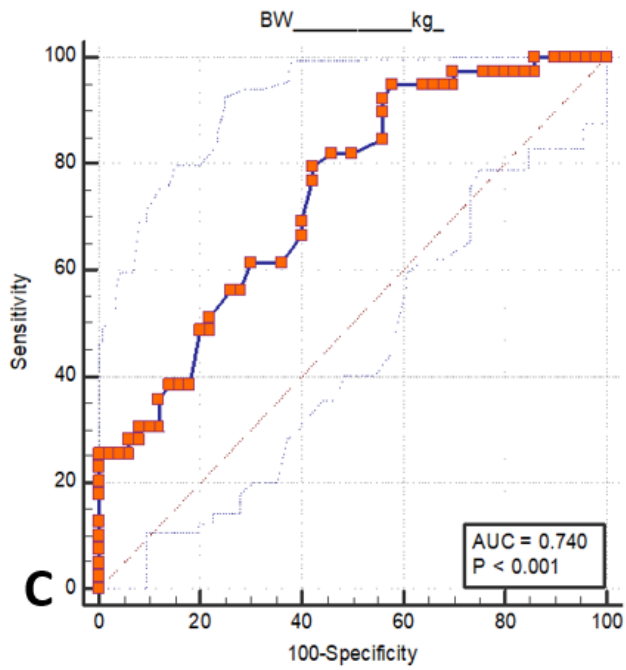
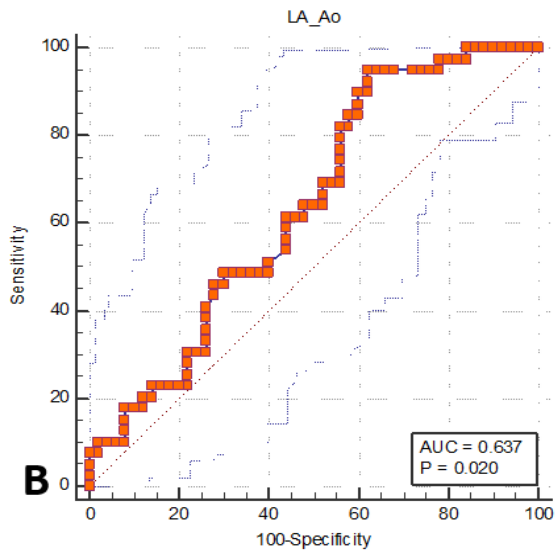
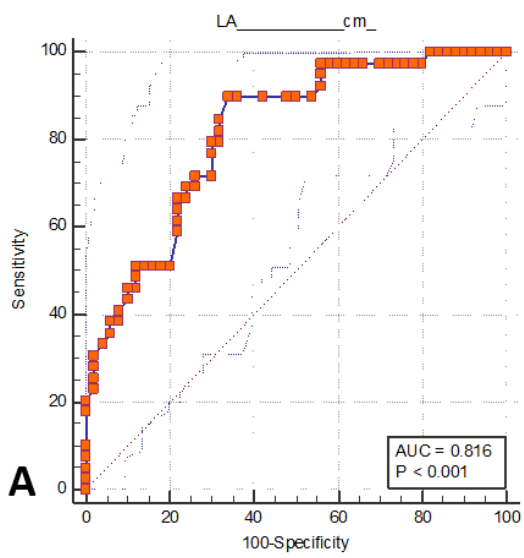
**Tabella 3.** Risultati dell'analisi multivariata che mostrano l'associazione tra il rischio di sviluppo di FA in 89 cani affetti da DCM. Abbreviazioni LA: diametro atrio sinistro (left atrial diameter); RAE: ingrandimento dell'atrio destro (right atrial enlargement).

#### 4.3.3 Analisi con curve ROC

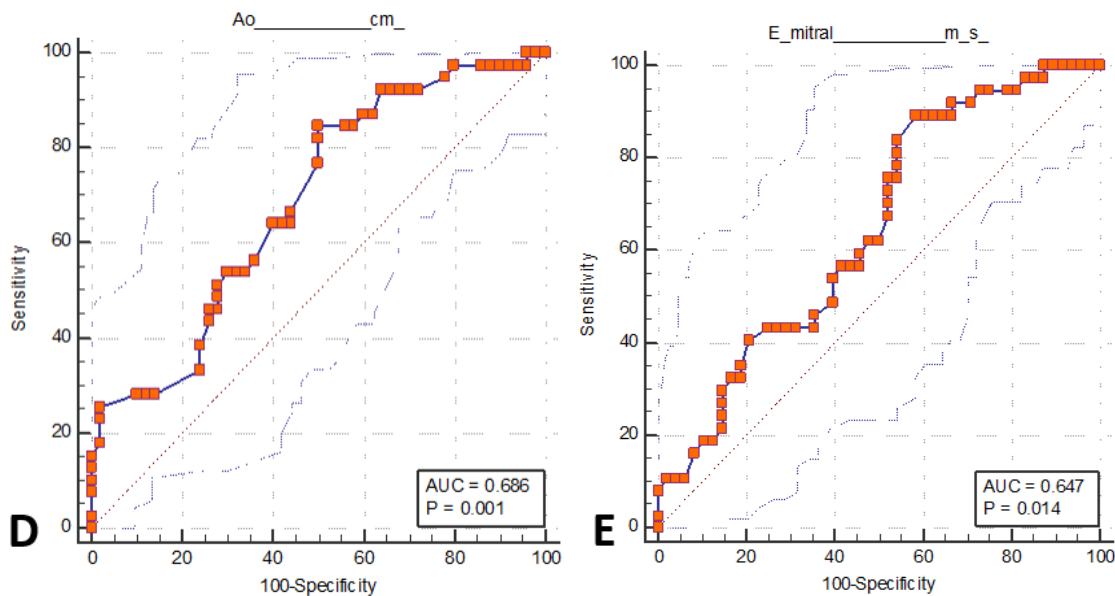
L'analisi statistica effettuata tramite le curve ROC (**Tabella 4** e **Figura 10**) ha evidenziato che il diametro dell'atrio sinistro (AUC= 0,81, 95% CI 0,72-0,89) mostrava la più elevata accuratezza nel predire lo sviluppo di FA al cut-off di >4,66 cm con una sensibilità del 90% ed una specificità del 66%. Inoltre, a seguito di queste analisi, il peso corporeo del soggetto (AUC = 0,74, 95% CI 0,64-0,83), il rapporto LA:Ao (AUC = 0,64, 95% CI 0,53-0,74) mostravano un'accuratezza moderata nel predire la presenza di FA al cut-off di >36Kg e di >1,73 rispettivamente. Infine, anche il diametro della radice aortica (AUC 0,69; 95% CI 0,58-0,78) e la velocità di picco dell'onda E transmitralica (AUC 0,65, 95% CI 0,54-0,75) presentavano una buona accuratezza nel predire lo sviluppo di FA al cut-off di >2,3 cm e di >0,79 m/s rispettivamente.

Variabile	AUC $\pm$ SE	95% CI	Cutoff	Sensibilità	Specificità	+LR	-LR
Peso corporeo (kg)	0,740 $\pm$ 0,052	0,636-0,827	>36	0,79	0,58	1,89	0,35
LA (cm)	0,816 $\pm$ 0,044	0,719-0,890	>4,66	0,90	0,66	2,64	0,16
Ao (cm)	0,686 $\pm$ 0,056	0,579-0,780	>2,3	0,85	0,50	1,69	0,31
LA:Ao	0,637 $\pm$ 0,059	0,528-0,736	>1,73	0,95	0,38	1,53	0,13
E mitral (m/s)	0,647 $\pm$ 0,059	0,536-0,748	>0,79	0,89	0,42	1,53	0,26

**Tabella 4.** Accuratezza diagnostica di cinque variabili cliniche ed ecocardiografiche nel predire lo sviluppo di FA in 89 cani affetti da DCM. Abbreviazioni: LA: diametro atrio sinistro (left atrial diameter); Ao: diametro della radice aortica (aortic diameter); LA:Ao: rapporto tra diametro dell'atrio sinistro e diametro della radice aortica (left atrial diameter to aortic diameter); E mitral: velocità massima dell'onda E transmitralica (mitral valve maximal E wave velocity); AUC: area sotto la curva (area under the curve); SE: errore standard (standard error); CI: intervallo di confidenza (confidence interval); +LR: rapporto di verosimiglianza positivo (positive likelihood ratio); -LR: rapporto di verosimiglianza negativo (negative likelihood ratio).







**Figura 10.** Analisi tramite curve ROC di due metodiche ecocardiografiche per la misurazione delle dimensioni dell'atrio sinistro (A-B), del peso corporeo (C), del diametro della radice aortica (D) e della velocità di picco dell'onda E (E) per valutare la predizione dello sviluppo di FA in una popolazione di 89 cani con DCM. (A) L'area sotto la curva del diametro dell'atrio sinistro (LA) è  $0,816 \pm 0,044$  (95% CI =  $0,719-0,890$ ) al cut-off di  $>4,66$  cm. (B) L'area sotto la curva del rapporto diametro dell'atrio sinistro-diametro della radice aortica (LA: Ao) è  $0,637 \pm 0,059$  (95% CI =  $0,528-0,736$ ) al cut-off di  $>1,73$ . (C) L'area sotto la curva del peso corporeo è  $0,74 \pm 0,052$  (95% CI =  $0,636-0,827$ ) al cut-off di  $>36$  Kg. (D) L'area sotto la curva del diametro della radice aortica è  $0,686 \pm 0,056$  (95% CI,  $0,579-0,780$ ) (E) l'area sotto la curva della velocità di picco dell'onda E (E mitral) è  $0,647 \pm 0,059$  (95% CI  $0,536-0,748$ ) al cut-off di  $>0,79$  m/s.

#### 4.4 DISCUSSIONE

I risultati di questo studio hanno confermato che la FA si sviluppa comunemente in cani di grossa taglia affetti da DCM e che i principali fattori predittivi per l'insorgenza di questa aritmia sono il diametro dell'atrio sinistro e la presenza di dilatazione dell'atrio destro. Nel corso dell'analisi univariata altre variabili quali il peso corporeo, la razza, il sesso, la presenza di CHF e il rapporto LA:Ao si sono inizialmente rivelate fattori predittivi per lo sviluppo di FA, ma solo il diametro assoluto dell'atrio sinistro e la presenza di dilatazione dell'atrio destro si sono dimostrate variabili indipendentemente associate a tale aritmia (Guglielmini et al., 2023).

Il presente studio ha evidenziato numerose differenze sia dal punto di vista clinico che ecocardiografico in cani con DCM affetti da FA rispetto a quelli non affetti.

Dal punto di vista clinico, i risultati ottenuti hanno mostrato che la prevalenza di FA era maggiore in cani di razza Alano, mentre una predominanza analoga non è stata riscontrata per le altre due razze maggiormente rappresentate nello studio, cioè il Dobermann ed il Labrador Retriever. Questo è in contrasto con quanto riportato in studi precedenti in cui la prevalenza della FA è risultata essere fino al 48% in cani di razza Dobermann affetti da DCM e con CHF (Friederich et al., 2020) e dal 77% all'88% in cani di razza Levriero Irlandese con DCM (Vollmar, 2000; Vollmar et al., 2019b). Tuttavia, numerosi studi hanno dimostrato che cani di razza Levriero Irlandese sono particolarmente predisposti a sviluppare FA, anche in assenza di DCM conclamata (Vollmar et al., 2019a). Inoltre, nel presente studio non sono stati inclusi soggetti di questa razza.

È stata riscontrata una più alta prevalenza di FA in cani con peso corporeo maggiore, in accordo con i risultati di studi precedenti in cui la FA mostrava una prevalenza maggiore in cani di taglia grande o gigante affetti da DCM, come l'Alano o il Terranova, rispetto a cani di taglia più piccola, come il Cocker Spaniel (Martin et al., 2010). Altri studi, condotti su una popolazione canina di 26 centri di medicina veterinaria negli Stati Uniti, hanno riscontrato grandi differenze riguardo la prevalenza della FA sulla base della razza e del peso corporeo, riportando una prevalenza variabile dallo 0,04% nel Barbone nano al 5,84% nel Levriero irlandese (Westling et al., 2008). Non è stata, invece, evidenziata alcuna differenza di sesso o di età, al contrario di quanto riscontrato nell'uomo, in cui sia l'età avanzata sia il sesso maschile rappresentano dei fattori di rischio per lo sviluppo di FA (Hindricks et al., 2021). Infatti, con il presente studio è stata confermata una maggiore prevalenza della DCM in cani di sesso maschile (Martin et al., 2010), ma non è stata identificata una maggiore prevalenza di FA in questi soggetti. Questo differisce da studi effettuati sia in medicina umana sia in cani affetti da MMVD, in cui è stata identificata una maggior percentuale di soggetti di sesso maschile affetti da FA rispetto a quelli di sesso femminile (Hindricks et al., 2021; Guglielmini et al., 2020).

Cani con FA presentavano una frequenza cardiaca più elevata rispetto a soggetti senza FA, in linea con quanto riportato in precedenti studi in cani con MMVD e FA (Guglielmini et al., 2020). Non sono state riscontrate differenze tra il gruppo con FA e il

gruppo senza FA per quanto riguarda la presenza di malattie non cardiache concomitanti e l'assunzione di una terapia farmacologica al momento dell'arruolamento nello studio. Nell'uomo, alcune malattie non cardiache sono state riconosciute come fattori di rischio per lo sviluppo di FA, quali il diabete mellito, l'insufficienza renale cronica, la malattia polmonare cronica ostruttiva (Hindricks et al., 2021). Nel cane, al contrario, nessuna comorbidità risulta essere un fattore di rischio per lo sviluppo di FA (Guglielmini et al., 2020) anche se tali malattie non sono state valutate singolarmente, ma piuttosto nel loro insieme.

Dal punto di vista ecocardiografico, cani affetti da FA presentavano un incremento significativo della velocità di picco dell'onda E, del diametro dell'atrio sinistro, del diametro dell'aorta e del rapporto LA:Ao. A seguito di questi risultati, si può ipotizzare che sia le dimensioni assolute dell'atrio sinistro, espresse tramite il diametro dell'atrio sinistro, sia l'aumento relativo delle dimensioni dell'atrio sinistro, espresso tramite il rapporto LA:Ao, potrebbero essere fattori determinanti per lo sviluppo di FA in cani con DCM. Inoltre, l'aumento della velocità di picco dell'onda E è indicativa di un aumento di pressione a carico dell'atrio sinistro (Oyama et al. 2004), che può predisporre anch'esso allo sviluppo di FA. In aggiunta, nel presente studio questa aritmia mostrava una maggior prevalenza in soggetti con CHF, in particolare CHF sinistra, così come in animali con dilatazione atriale destra e rigurgito tricuspide. Tutti questi fattori sono indicativi di uno stadio più avanzato di DCM.

Dal punto di vista statistico l'analisi univariata ha dimostrato che la razza Alano, comparata con il Dobermann ed il Labrador Retriever, aveva un maggior rischio di sviluppare FA. Allo stesso modo, anche il sesso maschile, un peso corporeo maggiore, un aumento del diametro dell'atrio sinistro, del diametro dell'aorta e del rapporto LA:Ao, della velocità di picco dell'onda E, una diminuzione della frazione di accorciamento e la presenza di dilatazione dell'atrio destro e CHF, rappresentavano dei fattori di rischio per lo sviluppo di FA. Tuttavia, a seguito dei risultati dell'analisi statistica multivariata, tra tutti i parametri clinici ed ecocardiografici sopra citati, solamente il diametro dell'atrio sinistro e la presenza di dilatazione dell'atrio destro sono stati confermati come fattori indipendenti di predizione per lo sviluppo di FA. I risultati ottenuti suggeriscono che l'aumento di dimensioni di entrambi gli atri sia

l'unico fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di FA in cani con DCM. In particolare, all'aumentare di 1cm del diametro dell'atrio sinistro corrisponde un rischio di sviluppare questa aritmia aumentato di circa tre volte e mezzo, e, se è presente dilatazione dell'atrio destro, il rischio risulta aumentato di circa quattro volte.

Dal momento che soggetti affetti da DCM presentano, generalmente, un peso corporeo maggiore rispetto a quelli affetti da MMVD, solamente le dimensioni assolute dell'atrio sinistro rappresentano un fattore predittivo, mentre il rapporto LA:Ao, nonostante sia l'indicatore ecocardiografico di dilatazione atriale sinistra più comunemente utilizzato nel cane, assume meno importanza. Inoltre, il peso corporeo non è risultato essere un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di FA. Questi risultati sembrano contrastare con quanto evidenziato da precedenti studi, in cui il peso corporeo dell'animale è risultato essere un fattore di rischio per lo sviluppo di questa aritmia. In particolare, uno studio ha dimostrato che cani affetti da MMVD con un peso corporeo superiore ai 20Kg presentavano un rischio di insorgenza della FA di 5,8 volte maggiore (Borgarelli et al., 2004). I risultati di questo studio sembrano suggerire che il peso corporeo ed il diametro dell'atrio sinistro possono essere considerati dei fattori di rischio per FA in una popolazione generale di cani con malattie cardiache associate a dilatazione dell'atrio sinistro. Tuttavia, quando si considera una popolazione più ristretta, costituita da cani con DCM, di cui la maggior parte ha un peso corporeo superiore ai 20Kg, il peso corporeo e gli indicatori ecocardiografici di dilatazione relativa dell'atrio sinistro, come il rapporto LA:Ao, diventano fattori di predizione meno importanti.

In questo studio anche la presenza di dilatazione dell'atrio destro, ma non di CHF, ha rappresentato un fattore predittivo indipendente per FA, come riportato recentemente in un altro studio condotto su cani di razza Dobermann con DCM affetti da FA (Friederich et al., 2020). Tuttavia, mentre molti studi hanno incentrato il proprio interesse sull'importanza dei cambiamenti strutturali riscontrati a carico dell'atrio sinistro in soggetti con FA, il ruolo della dilatazione dell'atrio destro non è stato ancora molto investigato sia in medicina umana (Ko et al., 2022) che veterinaria.

Le analisi statistiche effettuate tramite le curve ROC riguardanti le dimensioni dell'atrio sinistro, hanno dimostrato che un diametro dell'atrio sinistro al cut-off  $> 4,66$

cm aveva la più elevata accuratezza diagnostica nel predire la presenza di FA nei cani oggetto di questo studio. Per altre variabili, come ad esempio il peso corporeo e il rapporto LA:Ao è stata riscontrata una moderata accuratezza diagnostica. Nonostante il rapporto LA:Ao, con un cut-off di 1,73, abbia dimostrato una maggiore sensibilità nel predire lo sviluppo di FA rispetto al diametro dell'atrio sinistro (95% e 90% rispettivamente), la specificità è risultata molto più bassa (38% e 66% rispettivamente). Questi risultati confermano l'importanza delle dimensioni assolute dell'atrio sinistro per lo sviluppo di FA in cani affetti da DCM. Nell'uomo con episodi di ictus embolico da causa sconosciuta (Perlepe et al., 2020) e nel cane con MMVD (Guglielmini et al., 2020) è stato dimostrato che un diametro soglia dell'atrio sinistro di 40 mm e 3,45 cm rispettivamente è un buon fattore predittivo per lo sviluppo di FA.

La presenza di una malattia cardiaca sottostante che determina uno stiramento cronico a livello cardiaco, è una causa conosciuta di rimodellamento strutturale dell'atrio (Eckstein et al., 2008), ma è necessario considerare anche altri fattori relativi, ad esempio, alla specie o ad altre malattie concomitanti, che possono concorrere nel determinare specifiche soglie predittive per lo sviluppo di FA. In particolare, è necessario raggiungere un maggiore valore soglia del diametro dell'atrio sinistro per indurre lo sviluppo di FA in cani con DCM rispetto a quelli con MMVD, dato che la maggior parte dei soggetti affetti da DCM sono cani di taglia grande che presentano un diametro dell'atrio sinistro superiore a 3,45 cm senza mostrare segni di FA. Tuttavia, è necessario sottolineare che la dilatazione atriale può essere sia una causa che una conseguenza della FA, come osservato in cani di razza Levriero Irlandese in cui la FA è risultata essere un precursore della dilatazione delle camere cardiache e dello sviluppo di DCM (Simpson et al., 2016; Vollmar et al., 2019b).

Il rimodellamento atriale è un fondamentale meccanismo responsabile dello sviluppo di FA (Pathak et al., 2013). Nell'uomo, come nel cane, sono state individuate diverse tipologie di rimodellamento atriale: rimodellamento ionico, elettrico, funzionale e strutturale. Questi meccanismi sembrano concorrere allo sviluppo ed al mantenimento di questa aritmia, tramite modificazioni sia dal punto di vista macroscopico (come la dilatazione atriale) sia microscopico (come fibrosi, ipertrofia dei miocardiociti, apoptosi) (Pathak et al., 2013).

In particolare, dal punto di vista microscopico, nell'uomo affetto da FA è stato osservato che anche l'infiltrazione fibro-adiposa sub-endocardica sembra contribuire alla fibrosi del miocardio atriale (Hatem et al., 2016). Nel cane, uno studio ha valutato e confrontato il pattern istopatologico dell'atrio sinistro in animali affetti da DCM e da MMVD, di cui il 94% e il 7% rispettivamente, presentavano FA, riscontrando alcune differenze (Janus et al., 2016). Soggetti affetti da DCM presentavano una fibrosi interstiziale, una minor riduzione del lume vascolare e una maggior presenza di cambiamenti degenerativi, a differenza di cani affetti da MMVD, in cui è stata evidenziata maggiormente la presenza di fibrosi perivascolare, un restringimento del lume vascolare e minori fenomeni degenerativi (Janus et al., 2016). Nei cani di razza Levriero Irlandese, l'atrio destro di cani con FA, affetti e non affetti da DCM, presentava una maggior fibrosi del miocardio ed infiltrazione adiposa rispetto a soggetti sani (Vollmar et al., 2016). Inoltre, in un cane di taglia grande con MMVD e FA è stata dimostrata la presenza di un'infiltrazione fibro-adiposa del miocardio atriale (Tursi et al., 2018). Pertanto, la fibrosi atriale e l'infiltrazione fibro-adiposa del miocardio sembrano svolgere un ruolo importante nel rimodellamento atriale in cani con FA, ma sono necessari ulteriori studi per approfondire questa associazione.

La presenza di CHF risulta essere un altro fattore di rischio per lo sviluppo di FA nell'uomo (Hindricks et al., 2021). Spesso la CHF e la FA sono due condizioni che possono coesistere, anche se non è ancora ben chiara la relazione causa-effetto tra di esse e necessita di ulteriori approfondimenti sia nell'uomo che nel cane. In particolare, uno studio effettuato in medicina umana ha dimostrato che la FA precede e segue lo sviluppo di CHF sia in soggetti con la frazione di eiezione e quindi funzionalità sistolica, preservata che in soggetti con frazione d'eiezione ridotta (Santhanakrishnan et al., 2016).

Nel presente studio la presenza di CHF non è risultata un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di FA nel cane con DCM, a differenza di quanto riscontrato in soggetti con MMVD (Guglielmini et al., 2020). Questi risultati sembrano suggerire che la CHF precede lo sviluppo di FA in cani in cui la funzionalità sistolica è mantenuta, come avviene nella maggior parte degli animali affetti da MMVD, ma non in quelli in cui si osserva una riduzione della funzionalità sistolica, ossia nei cani con DCM. Tuttavia, è

necessario sottolineare che anche la riduzione della frazione di accorciamento, indicativa di una riduzione della funzionalità sistolica, è risultata essere un fattore di rischio per lo sviluppo di FA in cani con MMVD (Guglielmini et al., 2020). Pertanto, la precisa relazione causa-effetto tra FA e CHF rimane un aspetto che necessita approfondimenti, considerando anche che, nel cane, non è facile determinare la relazione temporale tra queste due condizioni. In ogni caso, la presenza di FA e CHF rappresenta un fattore prognostico negativo sia nell'uomo che nel cane con malattia cardiaca (Jung et al., 2016; Santhanakrishnan et al., 2016; Friederich et al., 2020).

Questo studio presenta dei limiti a causa del suo disegno retrospettivo. In primo luogo, è necessario considerare che la DCM può avere diverse eziologie, quali mutazioni genetiche, tossine, infezioni e squilibri nutrizionali ed è caratterizzata da alterazioni cardiache morfologiche e/o elettriche. (Wess, 2022). In questo studio sono stati inclusi solamente cani con diagnosi ecocardiografica di DCM e non sono stati inclusi soggetti che presentavano esclusivamente la forma aritmica della malattia. Pertanto, i risultati ottenuti in questo studio devono essere interpretati solamente in riferimento al gruppo di soggetti inclusi. Inoltre, la diagnosi ecocardiografica di DCM, così come la distinzione tra DCM primaria e DCM tachicardia-indotta, è difficile da eseguire (Bonagura & Visser, 2022). In questo studio è stato utilizzato un approccio semplificato per la diagnosi di DCM, a causa della variabilità di misurazioni ecocardiografiche di cani di razze differenti ottenute nei vari centri cardiologici specialistici coinvolti. Tuttavia, in questo studio sono state seguite alcune delle più recenti linee guida pubblicate per la diagnosi di questa malattia cardiaca canina (Wess et al., 2017; Bonagura & Visser, 2022; Wess, 2022). La valutazione del ritmo cardiaco è stata effettuata sia tramite la registrazione di un tracciato elettrocardiografico utilizzando strumenti appositi sia registrando un ECG di buona qualità durante l'esame ecocardiografico. Nonostante quest'ultimo possa rappresentare un metodo meno affidabile per l'analisi del ritmo cardiaco, esso permette di riconoscere le principali caratteristiche della FA, quali un tracciato isoelettrico senza onde P evidenti, associato ad un ritmo cardiaco irregolarmente irregolare, complessi QRS stretti ed assenza dell'onda A all'esame ecocardiografico in modalità M-mode e alla valutazione del flusso transmitralico tramite Doppler spettrale. La valutazione ecocardiografica delle

dimensioni atriali è stata effettuata tramite misurazione lineare per l'atrio sinistro e valutazioni soggettive per l'atrio destro. Alcuni studi hanno proposto dei metodi più accurati per la misurazione di entrambi gli atri (Wesselowski et al., 2014; Gentile-Solomon & Abbott, 2016). Tuttavia, la misurazione del diametro dell'atrio sinistro in asse corto con il calcolo del rapporto LA:Ao e la valutazione soggettiva dell'atrio destro rappresentano i metodi più comunemente utilizzati per la diagnosi di dilatazione atriale in medicina veterinaria (Bonagura & Visser, 2022). In aggiunta alla dilatazione dell'atrio sinistro, la disfunzione dell'atrio sinistro si associa allo sviluppo di FA e può essere diagnosticata utilizzando altri metodi ed indici ecocardiografici, come la valutazione del riempimento attivo dell'atrio sinistro, la valutazione del cambiamento di area frazionaria e la misurazione dello strain atriale sinistro utilizzando l'ecocardiografia speckle tracking (STE) (Cameli et al., 2016). In aggiunta, la valutazione dello strain atriale sinistro può fornire utili informazioni predittive sullo sviluppo di FA sia nell'uomo che nel cane (Cameli et al., 2016; Kawakami et al., 2020). In questo studio, tuttavia, non sono state utilizzate tecniche ecocardiografiche avanzate, inclusa la valutazione dello strain atriale sinistro utilizzando l'ecocardiografia speckle tracking. Infatti, l'ecocardiografia speckle tracking è stata utilizzata per la valutazione della funzionalità dell'atrio sinistro in cani sani ed in cani affetti da MMVD, ma non è stata approfondita in soggetti affetti da DCM (Baron Toaldo et al., 2017; Baron Toaldo et al., 2021).



## 5. CONCLUSIONI

In conclusione, i risultati di questo studio hanno confermato che la FA rappresenta una complicanza frequente nei cani di grossa taglia affetti da DCM ed hanno dimostrato che un aumento delle dimensioni dell'atrio destro e la dilatazione dell'atrio sinistro, riscontrata all'esame ecocardiografico tramite misurazione del suo diametro, ma non del rapporto LA:Ao, sono fattori di rischio indipendenti per lo sviluppo di FA in una popolazione eterogenea di cani con DCM. Altri fattori di rischio per lo sviluppo di FA riportati da precedenti studi sia nell'uomo (come l'età avanzata e la presenza di CHF) sia nel cane di taglia piccola affetto da MMVD (come il peso corporeo e la presenza di CHF), non sembrano svolgere lo stesso ruolo in cani di grossa taglia affetti da DCM. Questo risultato suggerisce che l'aumento di dimensioni di entrambi gli atri sia l'unico fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di FA in cani con DCM.

Un altro aspetto confermato in questo studio è che la FA e la CHF sono comunemente associate con la DCM nel cane. Si tratta, tuttavia, di un argomento meritevole di ulteriori approfondimenti, considerando che spesso è difficile stabilire esattamente la relazione causa-effetto tra queste due condizioni. Pertanto, l'individuazione della correlazione tra FA e CHF rappresenterebbe un risultato importante per gli studi prognostici sia nell'uomo che nel cane affetti da malattie cardiache.

Ulteriori studi longitudinali prospettici potrebbero superare i limiti del presente studio retrospettivo, confermando i risultati ottenuti con questa indagine e aggiungendo ulteriori informazioni riguardanti i fattori prognostici per lo sviluppo di FA in cani affetti da DCM. Questo consentirebbe di migliorare la comprensione della fisiopatologia della FA e identificare i soggetti potenzialmente affetti per poter instaurare precocemente efficaci trattamenti preventivi.

## BIBLIOGRAFIA

1. Baron Toaldo M., Bini M., Romito G., Guglielmini C., Cipone M., Contiero B. 2021. Left atrial speckle tracking echocardiography in clinically healthy dogs: Variability and prediction intervals. *Veterinary Journal* 267: 105577.
2. Baron Toaldo M., Romito G., Guglielmini C., Diana A., Pelle N.G., Contiero, B., Cipone M. 2017. Assessment of Left Atrial Deformation and Function by 2-Dimensional Speckle Tracking Echocardiography in Healthy Dogs and Dogs With Myxomatous Mitral Valve Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31(3): 641–649.
3. Bonagura J.D., Visser L.C. 2022. Echocardiographic assessment of dilated cardiomyopathy in dogs. *Journal of Veterinary Cardiology* 40: 15–50.
4. Bonagura J.D. 1994. Echocardiography. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 204(4), 516–522.
5. Borgarelli M., Tarducci A., Tidholm A., Häggström J. 2001. Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part II: pathophysiology and therapy. *Veterinary Journal* 162(3): 182–195.
6. Borgarelli M., Zini E., D’agnolo G., Tarducci A., Santilli R.A., Chiavegato D., Tursi M., Prunotto M., Häggström, J. 2004. Comparison of primary mitral valve disease in German Shepherd dogs and in small breeds. *Journal of Veterinary Cardiology* 6(2): 27-34.
7. Borgeat K., Pack M., Harris J., Laver A., Seo J., Belachsen O., Hannabuss J., Todd J., Ferasin L., Payne J.R. 2021. Prevalence of sudden cardiac death in dogs

- with atrial fibrillation. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 35(6): 2588–2595.
8. Brundel B.J., Melnyk P., Rivard L., Nattel S. 2005. The pathology of atrial fibrillation in dogs. *Journal of Veterinary Cardiology* 7(2): 121–129.
  9. Cameli M., Mandoli G.E., Loiacono F., Sparla S., Iardino E., Mondillo S. 2016. Left atrial strain: A useful index in atrial fibrillation. *International Journal of Cardiology* 220: 208–213.
  10. Chetboul V., Bussadori C., Madròn E. 2016. Clinical Echocardiography of the Dog and Cat. Ed. Elsevier, Inc
  11. Decloedt A., Van Steenkiste G., Vera L., Buhl R., van Loon G. 2020. Atrial fibrillation in horses part 1: Pathophysiology. *Veterinary Journal* 263: 105521.
  12. Dukes-McEwan J., Borgarelli M., Tidholm A., Vollmar A.C., Häggström J. 2003. Proposed guidelines for the diagnosis of canine idiopathic dilated cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology* 5(2): 7–19.
  13. Eckstein J., Verheule S., de Groot N., Allessie M., Schotten U. 2008. Mechanisms of perpetuation of atrial fibrillation in chronically dilated atria. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 97(2–3):435–451.
  14. Fousse S. L., Tyrrell W. D., Dentino M. E., Abrams F. L., Rosenthal S. L., Stern J. A. 2019. Pedigree analysis of atrial fibrillation in Irish wolfhounds supports a high heritability with a dominant mode of inheritance. *Canine Genetics and Epidemiology* 6: 11.

15. Friederich J., Seuß A. C., Wess G. 2020. The role of atrial fibrillation as a prognostic factor in doberman pinschers with dilated cardiomyopathy and congestive heart failure. *Veterinary Journal* 264: 105535.
16. Gelzer A.R., Kraus M.S. 2004. Management of atrial fibrillation. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 34 (5): 1127–1144.
17. Gentile-Solomon J.M., Abbott J.A. 2016. Conventional echocardiographic assessment of the canine right heart: reference intervals and repeatability. *Journal of Veterinary Cardiology* 18(3): 234–247.
18. Guglielmini C., Chetboul V., Pietra M., Pouchelon J.L., Capucci A., Cipone M. 2000. Influence of Left Atrial Enlargement and Body Weight on the Development of Atrial Fibrillation: Retrospective Study on 205 Dogs. *Veterinary Journal* 160(3): 235–241.
19. Guglielmini C., Goncalves Sousa M., Baron Toaldo M., Valente C., Bentivoglio V., Mazzoldi C., Bergamin I., Drigo M., Poser H. 2020. Prevalence and risk factors for atrial fibrillation in dogs with myxomatous mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 34(6): 2223–2231.
20. Guglielmini C., Valente C., Romito G., Mazzoldi C., Baron Toaldo M., Goncalves Sousa M., Wolf M., Beluque T., Domenech O., Patata V., Porciello F., Ferrari P., Caivano D., Contiero B., Poser H. 2023. Risk factors for atrial fibrillation in dogs with dilated cardiomyopathy. *Frontiers in Veterinary Science* 10: 1183689.
21. Hatem S.N., Redheuil A., Gandjbakhch E. 2016. Cardiac adipose tissue and atrial fibrillation: The perils of adiposity. *Cardiovascular Research* 109(4): 502–509.

22. Hindricks G., Potpara T., Dagres N., Arbelo E., Bax J.J., Blomström-Lundqvist C., Boriani G., Castella M., Dan G.A., Dilaveris P.E., Fauchier L., Filippatos G., Kalman J.M., La Meir M., Lane D.A., Lebeau J.P., Lettino M., Lip G.Y.H., Pinto F.J., Thomas G.N., Valgimigli M., Van Gelder I.C., Van Putte B.P., Watkins C.L. 2021. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *European Heart Journal* 42(5): 373–498.
23. Holler P.J., Wess G. 2014. Sphericity Index and E-Point-to-Septal-Separation (EPSS) to diagnose dilated cardiomyopathy in doberman pinschers. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28(1): 123–129.
24. January C.T., Wann L.S., Calkins H., Chen L.Y., Cigarroa J.E., Cleveland J.C., Ellinor P.T., Ezekowitz M.D., Field M.E., Furie K.L., Heidenreich P.A., Murray K. T., Shea J.B., Tracy C.M., Yancy C.W. 2019. 2019 AHA/ACC/HRS Focused Update of the 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society in Collaboration With the Society of Thoracic Surgeons. *Circulation* 140(2): e125–e151.
25. Janus I., Noszczyk-Nowak A., Nowak M., Ciaputa R., Kandefer-Gola M., Paławska U. 2016. A comparison of the histopathologic pattern of the left atrium in canine dilated cardiomyopathy and chronic mitral valve disease. *BMC Veterinary Research* 12: 3.
26. Jung S.W., Sun W., Griffiths L.G., Kittleson M.D. 2016. Atrial Fibrillation as a Prognostic Indicator in Medium to Large-Sized Dogs with Myxomatous Mitral

- Valvular Degeneration and Congestive Heart Failure. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30(1): 51–57.
27. Kawakami H., Ramkumar S., Pathan F., Wright L., Marwick T.H. 2020. Use of echocardiography to stratify the risk of atrial fibrillation: Comparison of left atrial and ventricular strain. *European Heart Journal Cardiovascular Imaging* 21(4): 399–407.
28. Kirchhof P., Benussi S., Kotecha D., Ahlsson A., Atar D., Casadei B., Castella M., Diener H.C., Heidbuchel H., Hendriks J., Hindricks G., Manolis A.S., Oldgren J., Popescu B.A., Schotten U., Van Putte B., Vardas P., & ESC Scientific Document Group (2016). 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *European heart journal* 37(38): 2893–2962.
29. Klüser L., Holler P.J., Simak J., Tater G., Smets P., Rügamer D., Küchenhoff H., Wess G. 2016. Predictors of Sudden Cardiac Death in Doberman Pinschers with Dilated Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30(3): 722–732.
30. Ko K.Y., Jang J.H., Choi S.H., Baek Y.S., Kwon S.W., Park S.D., Woo S.I., Kim D. H., Shin S.H. 2022. Impact of right atrial enlargement on clinical outcome in patients with atrial fibrillation. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 9: 989012.
31. Lakhdir S., Viall A., Alloway E., Keene B., Baumgartner K, Ward J. 2020. Clinical presentation, cardiovascular findings, etiology, and outcome of myocarditis in dogs: 64 cases with presumptive antemortem diagnosis (26 confirmed postmortem) and 137 cases with postmortem diagnosis only (2004 – 2017). *Journal of Veterinary Cardiology* 30:44–56.

32. Martin M.W., Stafford Johnson M.J., Strehlau G., King J.N. 2010. Canine dilated cardiomyopathy: A retrospective study of prognostic findings in 367 clinical cases. *Journal of Small Animal Practice* 51(8): 428–436.
33. McCauley S.R., Clark S.D., Quest B.W., Streeter R.M., Oxford E.M. 2020. Review of canine dilated cardiomyopathy in the wake of diet-associated concerns. *Journal of Animal Science* 98(6): 1–10.
34. Menaut P., Bélanger M.C., Beauchamp G., Ponzio N.M., Moïse, N.S. 2005. Atrial fibrillation in dogs with and without structural or functional cardiac disease: A retrospective study of 109 cases. *Journal of Veterinary Cardiology* 7(2): 75–83.
35. Meurs KM., Stern JA., Sisson DD., Kittleson MD., Cunningham SM., Ames MK., Atkins C.E., DeFrancesco T., Hodge T.E., Keene B.W., Reina Doreste Y., Leuthy M., Motsinger-Reif A.A., Tou SP. 2013. Association of dilated cardiomyopathy with the striatin mutation genotype in boxer dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27(6):1437-1440.
36. O'Grady M.R., O'Sullivan M.L. 2004. Dilated cardiomyopathy: An update. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 34(5): 1187–1207.
37. O'Grady M.R., O'Sullivan M.L., Minors S.L., Horne R. 2009. Efficacy of Benazepril Hydrochloride to Delay the Progression of Occult Dilated Cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23: 977-983.
38. Ontiveros E.S., Whelchel B.D., Yu J., Kaplan J.L., Sharpe A.N., Fousse S.L., Crofton A.E., Fascetti A.J., Stern, J.A. 2020. Development of plasma and whole blood taurine reference ranges and identification of dietary features associated

- with taurine deficiency and dilated cardiomyopathy in golden retrievers: A prospective, observational study. *PLoS ONE* 15(5): e0233206
39. Oyama M.A., Sisson D.D., Bulmer B.J., Constable PD. 2004. Echocardiographic estimation of mean left atrial pressure in a canine model of acute mitral valve insufficiency. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18:667–672.
  40. Pariaut R. 2017. Atrial Fibrillation: Current Therapies. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 47(5): 977–988.
  41. Pathak R., Lau D.H., Mahajan R., Sanders P. 2013. Structural and Functional Remodeling of the Left Atrium: Clinical and Therapeutic Implications for Atrial Fibrillation. *Journal of Atrial Fibrillation* 6(4): 986.
  42. Pedro B., Dukes-McEwan J., Oyama M.A., Kraus M.S., Gelzer, A.R. 2018. Retrospective Evaluation of the Effect of Heart Rate on Survival in Dogs with Atrial Fibrillation. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32(1): 86–92.
  43. Pedro B., Fontes-Sousa A. P., Gelzer, A.R. 2020a. Diagnosis and management of canine atrial fibrillation. *Veterinary Journal* 265: 105549.
  44. Pedro B., Fontes-Sousa A.P., Gelzer A.R. 2020b. Canine atrial fibrillation: Pathophysiology, epidemiology and classification. *Veterinary Journal* 265: 105548.
  45. Pérez J.M., Alessi C., Grzech-Wojciechowska M. 2020. Diagnostic methods for the canine idiopathic dilated cardiomyopathy: A narrative evidence-based rapid review. *Research in Veterinary Science* 128: 205–216.



46. Perlepe K., Sirimarco G., Strambo D., Eskandari A., Karagkiozi E., Vemmou A., Koroboki E., Manios E., Makaritsis K., Vemmos K., Michel P., Ntaios G. 2020. Left atrial diameter thresholds and new incident atrial fibrillation in embolic stroke of undetermined source. *European Journal of Internal Medicine* 75: 30–34.
47. Prabhu S., Voskoboinik A., Kaye D.M., Kistler, P.M. 2017. Atrial Fibrillation and Heart Failure - Cause or Effect? *Heart Lung and Circulation* 26(9): 967–974.
48. Premont A., Baltes S., Marr C.M., Jeevaratnam K. 2022. Fundamentals of arrhythmogenic mechanisms and treatment strategies for equine atrial fibrillation. *Equine Veterinary Journal* 54(2): 262–282.
49. Santhanakrishnan R., Wang N., Larson M.G., Magnani J.W., McManus D.D., Lubitz S.A., Ellinor P.T., Cheng S., Vasan R.S., Lee D.S., Wang T.J., Levy D., Benjamin E. J., Ho J.E. 2016. Atrial fibrillation begets heart failure and viceversa: Temporal associations and differences in preserved versus reduced ejection fraction. *Circulation* 133(5): 484–492.
50. Santilli R., Moise S., Pariaut R. Perego M. 2020. La fibrillazione atriale. In *Elettrocardiografia del cane e del gatto*, ed. Edra, 174-180. Milano: Edra S.p.A.
51. Schroeder N. 2021. Atrial fibrillation. In *Interpretation of the Electrocardiogram in Small Animals*, ed John Wiley and Sons, Inc. Hoboken, USA.
52. Shen L., Estrada A.H., Meurs K.M., Sleeper M., Vulpe C., Martyniuk C.J., Pacak C.A. 2022. A review of the underlying genetics and emerging therapies for canine cardiomyopathies. *Journal of Veterinary Cardiology* 40: 2–14.

53. Simpson S., Dunning M.D., Brownlie S., Patel J., Godden M., Cobb M., Mongan, N.P., Rutland C.S. 2016. Multiple Genetic Associations with Irish Wolfhound Dilated Cardiomyopathy. *BioMed Research International* 2016: 6374082.
54. Simpson S., Kordtomeikel K.-Z., Wong S., Bennison S., El-Gendy S., Cobb M., Rutland C. 2021. Diagnosis, Prognosis, Management, Treatment, Research and Advances in Canine Dilated Cardiomyopathy. In *Canine Genetics, Health and Medicine*. ed. C. Rutland.
55. Sykes K.T., Saunders A.B., Hoffmann A.R., Porter B.F. 2021. Histologic comparison in two Doberman pinschers with a dilated cardiomyopathy phenotype. *Journal of Veterinary Cardiology*: 33: 1–5.
56. Tidholm A., Jönsson L. 2005. Histologic characterization of canine dilated cardiomyopathy. *Veterinary Pathology* 42(1): 1–8.
57. Tidholm A., Häggström J., Borgarelli M., Tarducci A. 2001. Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part I: Aetiology, clinical characteristics, epidemiology and pathology. *Veterinary Journal* 162(2): 92–107.
58. Tursi M., Poser H., Janus I., Guglielmini C. 2018. Pathology in Practice. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 253(12): 1551–1553.
59. Tyrrell W.D., Abbott J.A., Rosenthal S.L., Dentino M., Abrams F. 2020. Echocardiographic and electrocardiographic evaluation of North American Irish Wolfhounds. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 34(2): 581–590.
60. Visser L.C., Ciccozzi M.M., Sintov D.J., Sharpe A.N. 2019. Echocardiographic quantitation of left heart size and function in 122 healthy dogs: A prospective

- study proposing reference intervals and assessing repeatability. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(5): 1909–1920.
61. Vollmar A.C. 2000. The prevalence of cardiomyopathy in the Irish wolfhound: a clinical study of 500 dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association* 36(2): 125–132.
  62. Vollmar A.C., Aupperle H. 2016. Cardiac pathology in Irish wolfhounds with heart disease. *Journal of Veterinary Cardiology* 18(1): 57–70.
  63. Vollmar C., Vollmar A., Keene B., Fox P.R., Reese S., Kohn B. 2019a. Irish wolfhounds with subclinical atrial fibrillation: progression of disease and causes of death. *Journal of Veterinary Cardiology* 24: 48–57.
  64. Vollmar C., Vollmar A., Keene B.W., Fox P.R., Reese S., Kohn B. 2019b. Dilated cardiomyopathy in 151 Irish Wolfhounds: Characteristic clinical findings, life expectancy and causes of death. *Veterinary Journal* 245: 15–21.
  65. Waldmann V., Jouven X., Narayanan K., Piot O., Chugh S.S., Albert C.M., Marijon E. 2020. Association between Atrial Fibrillation and Sudden Cardiac Death: Pathophysiological and Epidemiological Insights. *Circulation Research* 127(2): 301–309.
  66. Walker A.L., DeFrancesco T.C., Bonagura J.D., Keene B.W., Meurs K.M., Tou S.P., Kurtz K., Aona B., Barron L., McManamey A., Robertson J., Adin, D.B. 2022. Association of diet with clinical outcomes in dogs with dilated cardiomyopathy and congestive heart failure. *Journal of Veterinary Cardiology* 40: 99–109.
  67. Ward J., Ware W., Viall A. 2019. Association between atrial fibrillation and right-sided manifestations of congestive heart failure in dogs with degenerative

- mitral valve disease or dilated cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology* 21: 18–27.
68. Wess G., Mäurer J., Simak J., Hartmann K. 2010. Use of Simpson's Method of Disc to Detect Early Echocardiographic Changes in Doberman Pinschers with Dilated Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24: 1069-1076.
69. Wess G. 2022. Screening for dilated cardiomyopathy in dogs. *Journal of Veterinary Cardiology* 40: 51–68.
70. Wess G., Domenech O., Dukes-McEwan J., Häggström J., Gordon S. 2017. European Society of Veterinary Cardiology screening guidelines for dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *Journal of Veterinary Cardiology* 19(5): 405–415.
71. Wesselowski S., Borgarelli M., Bello N.M., Abbott J. 2014. Discrepancies in Identification of Left Atrial Enlargement Using Left Atrial Volume versus Left Atrial-to-Aortic Root Ratio in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28(5): 1527–1533.