

Indagine morfologica, immunoistochimica e biochimica su valvole tricuspidi normali e degenerate di cani giovani e adulti

Con il termine malattia cronica della valvola mitrale (MVC) si definisce la malattia cronica caratterizzata da una degenerazione mixomatosa che colpisce la valvola mitrale da sola nel 62% dei casi, entrambe le valvole nel 32,5% dei casi e la valvola tricuspide da sola nel 1,3% dei casi [1, 2].

L'insufficienza tricuspide in corso di degenerazione mixomatosa può essere conseguenza di alterazioni valvolari tricuspidi primarie (foto 1) o secondarie all'ipertensione polmonare secondaria alla malattia del cuore sinistro [12]. La valvola tricuspide (VT) risulta la meno studiata dal punto di vista anatomico-patologico ed è stata definita "Cenerentola" delle valvole cardiache per la poca attenzione ricevuta fino ad oggi da parte della letteratura scientifica [14, 28].

La descrizione anatomica di questa valvola nel cane fa riferimento alla presenza di tre cuspidi [3, 5, 23]. La cuspidi situata dalla parte del setto interventricolare ed adiacente all'estremità della cresta sopraventricolare

Federica Cabutto*,
Silvia Mioletti**,
Daniele Michele Nucera***,
Stefano Amedeo**,
Marco Poggi****,
Massimiliano Tursi**
*Libero Professionista DMV
**Dipartimento di Scienze
Veterinarie, Università degli Studi
di Torino
***Dipartimento di Scienze
Agrarie, Forestali e Alimentari,
Università degli Studi di Torino
****Centro Veterinario Imperiese

è detta cuspidi settale (o dorsale), e le due cuspidi che si trovano sulla parete ventricolare libera sono dette cuspidi parietale (o ventrale) e cuspidi angolare [5]. Le cuspidi parietale e angolare della VT sono strutturalmente paragonabili a quelle della valvola mitrale (VM) e all'osservazione microscopica appaiono costituite da quattro strati facilmente distinguibili. La cuspidi settale della VT appare invece macroscopicamente più spessa e opaca delle altre due e istologicamente la sua stratificazione non è altrettanto facilmente individuabile [1, 9] (foto 2). Nei lembi valvolari delle tricuspidi normali, all'osservazione istologica è infatti possibile distinguere la seguente stratificazione: *atrialis*, composta da un sottile strato di endotelio e fibre elastiche e rivolta verso l'atrio al momento della sistole; spongiosa (sotto l'*atrialis*), costituita principalmente da tessuto connettivo, a volte contenente tessuto miocardico e adipociti; fibrosa, composta da fibre di collagene strettamente organizzate in una rete densa; *ventricularis*, rivolta verso il ventricolo al momento della



Foto 1. Parasternale destra asse lungo si evidenzia prolasso del lembo settale della tricuspide.

AD: atrio destro, VD: ventricolo destro, AS: atrio sinistro, VS ventricolo sinistro, VM: valvola mitrale, VT: valvola tricuspide, 1 lembo parietale, 2 lembo settale.

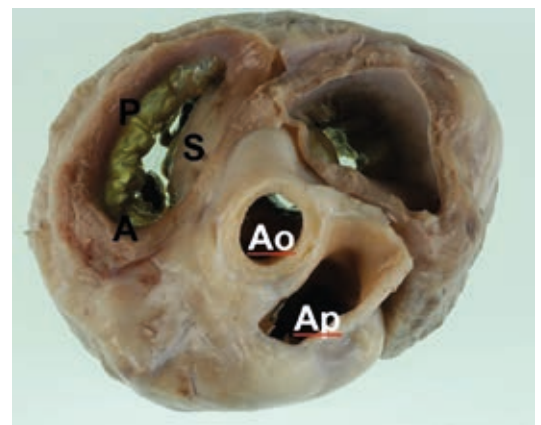


Foto 2. Cuore di cane dopo asportazione degli atri per visualizzare le valvole atrio-ventricolari.

S = lembo settale, A = lembo angolare, P = lembo parietale; Ao = aorta e Ap = arteria polmonare

CARDIOLOGIA CANINA

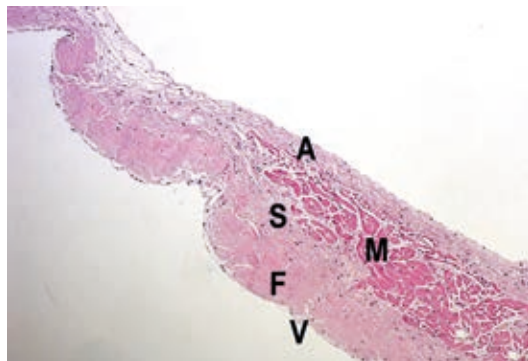


Foto 3. Sezione del lembo prossimale di una cuspidi angolare. Ematossilina-Eosina (10x).
A = atrialis, M = porzione di miocardio, S = spongiosa, F = fibrosa, V = ventricularis

sistole e costituita da uno strato di endotelio e fibre elastiche, intervallati dall'impianto di corde tendinee [9, 19, 29, 37]. La normale stratigrafia della cuspidi si perde nella porzione terminale, dove tutti e quattro gli strati sono fusi insieme nel tessuto embrionale finemente disperso, consistente in una rete di cellule stellate con scarso citoplasma, circondato da matrice povera di fibre collagene (foto 3) [17].

Questa descrizione microscopica è appropriata per le cuspidi angolare e parietale della VT, mentre la cuspidi settale, pur mantenendo la struttura di atrialis e ventricularis come le altre cuspidi, non presenta una distinzione così definita tra spongiosa e fibrosa [1, 2, 6, 17].

Queste differenze anatomiche potrebbero essere spiegate mediante un diverso sviluppo embriologico [35, 19, 21, 38].

Le lesioni macroscopiche e istologiche sono simili a quelle osservabili nella VM, anche se nel cuore destro sono meno gravi e hanno una progressione più lenta [37]. La cuspidi più colpita è quella settale e la rottura delle corde tendinee coinvolge soprattutto quelle responsabili del sostegno di questo lembo [29]. Le caratteristiche cliniche della degenerazione mixomatosa nella VT umana appaiono sovrapponibili a quelle osservate nel cane. Nell'uomo il rigurgito tricuspide si verifica frequentemente come risposta secondaria a malattie del cuore sinistro e del polmone e studi recenti dimostrano che i pazienti umani con rigurgito mitralico e tricuspide migliorano significativamente il loro tasso di sopravvivenza con la correzione chirurgica [10, 32].

Lo scopo di questo studio è stato quello di indagare la morfologia e il quadro immunostochimico e biochimico di lembi di valvole tricuspide canine normali e degenerate, per verificare i caratteri comuni e le eventuali differenze tra la malattia mixomatosa della valvola mitrale e quella della tricuspide.

MATERIALI E METODI

In questo lavoro sono stati inclusi cuori di cani sottoposti ad eutanasia previa autorizzazione da parte dei proprietari. I casi sono stati raccolti presso l'Ospedale Didattico del Dipartimento di Scienze Veterinarie di Torino e presso Cliniche ed Ambulatori Veterinari siti in Torino e provincia. Sono stati inclusi 17 cani di taglia media, divisi in due gruppi in base all'età: il gruppo 1 ha coinvolto soggetti da 0 a 8 anni (tabella 1) e il gruppo 2 soggetti di età superiore a 8 anni (tabella 2). In particolare, si è trattato di 8 soggetti maschi e 9 femmine di razze: Rottweiler (3), Pastore Tedesco (2), Collie (1), Cocker Spaniel Inglese (1), Dalmata (1),

Tabella 1. Gruppo 1: cani giovani

ID	Razza	Sesso	Età
1	Pastore tedesco	M	6 m
2	Golden R.	M	3 aa
3	Rottweiler	F	5 aa
4	Meticcio	F	6 aa

Tabella 2. Gruppo 2: cani anziani

ID	Razza	Sesso	Età
5	Rottweiler	F	9 aa
6	Meticcio	M	10 aa
7	Scott. Airedale Terrier	F	11 aa
8	Meticcio	F	11 aa
9	Cocker sp. ingl.	M	12 aa
10	Labrador R.	F	12 aa
11	Dalmata	F	13 aa
12	Rottweiler	M	13 aa
13	Collie	M	13 aa
14	Pastore tedesco	M	14 aa
15	Meticcio	F	14 aa
16	Pitbull	M	15 aa
17	Meticcio	F	15 aa

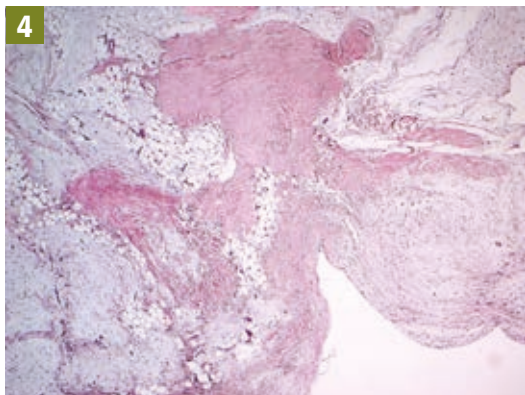


Foto 4. Porzione distale del lembo della cuspidе settale di un soggetto colpito da endocardiosi. Colorazione Ematossilina-Eosina (2,5x).

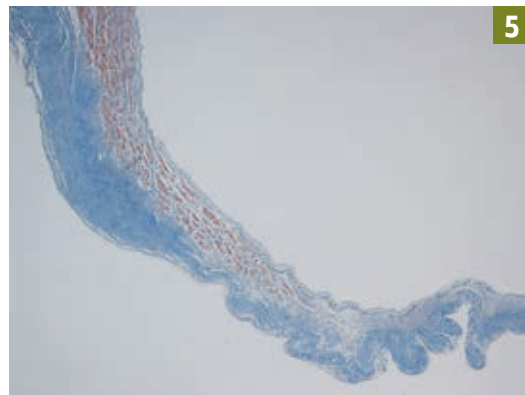


Foto 5. Porzione prossimale e media del lembo della cuspidе parietale di un soggetto colpito da endocardiosi. Colorazione Tricromica di Masson con blu di Anilina (2,5x).

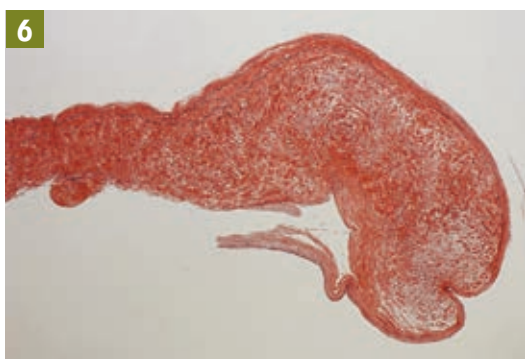


Foto 6. Porzione distale del lembo della cuspidе parietale di un soggetto colpito da endocardiosi. Colorazione Elastic picro Sirius red (10x).

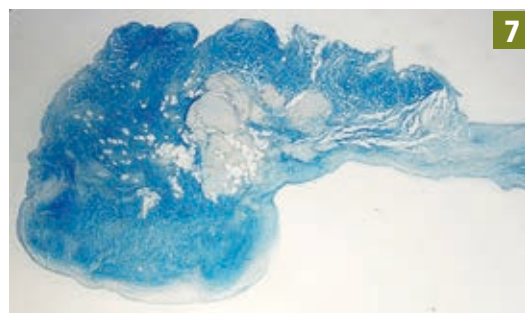


Foto 7. Porzione distale del lembo della cuspidе settale di un soggetto colpito da endocardiosi. Colorazione Alcian Blu (2,5x).

Golden Retriever (1), Labrador Retriever (1), Pit-bull (1), Scottish Airedale Terrier (1) e meticci (5).

Esame macroscopico

Il cuore è stato aperto seguendo i tratti di afflusso ed efflusso ematico e sono stati osservati il ventricolo destro e la VT. In particolare, la VT è stata esaminata secondo la classificazione macroscopica di Whitney [36] attribuendo il valore "0" a lembi tricuspидali normali, il valore "1" a quelli leggermente degenerati, il valore "2" a quelli moderatamente degenerati e il valore "3" a quelli colpiti da degenerazione mixomatosa grave. Nel valore "1" risulta visibile un leggero ispessimento con opacizzazione di alcune aree della superficie valvolare tricuspидale. Nel valore "2" si osservano noduli coalescenti, placche o aree opacizzate di maggiori dimensioni e spessore, che possono estendersi parzialmente alle corde tendinee. Nel valore "3" i lembi della VT appaiono completamente irregolari e deformati con bordi arricciati, in alcuni casi con interessamento delle corde tendinee, che spesso

sono allungate o addirittura rotte. Nei casi più gravi, si osserva una dilatazione dell'atrio destro e un'ipertrofia eccentrica o una dilatazione del ventricolo destro. Per ogni VT si è quindi proceduto al taglio longitudinale di ogni cuspidе in due parti, dalla porzione distale (corrispondente al bordo libero) alla porzione vicina all'annulus; una parte è stata fissata in formalina per l'esame istologico mentre l'altra è stata suddivisa in tre porzioni: prossimale, media e distale. Le porzioni mediane di ogni emi-foglietto sono state refrigerate a -80° per l'analisi biochimica.

Analisi istologica e istochimica

I tessuti campionati per l'esame microscopico, fissati in formalina tamponata al 10% per 24-48 ore, sono stati inclusi in paraffina. Sezioni di 4 mm di spessore sono state colorate con Ematossilina-Eosina (EE), Tricromica di Masson (per evidenziare il tessuto connettivo), Elastic Picro Sirius Red (per colorare il collagene e le fibre elastiche) e Alcian Blue (per colorare i mucopolisaccaridi), (foto 4, 5, 6, 7).

CARDIOLOGIA CANINA

Ogni sezione è stata esaminata al microscopio ottico. Secondo la classificazione microscopica di Kogure [19], basata sulla quantità e sulla distribuzione di tessuto mixoide, sono stati attribuiti: il valore "0" ai lembi valvolari normali, con regolare stratificazione del tessuto, senza evidenze di tessuto mixoide; il valore "1" nel caso di degenerazione mixoide lieve nella porzione valvolare distale; il valore "2" per coinvolgimento del fenomeno degenerativo della porzione media e distale, con alterazione morfologica del lembo valvolare; il valore "3" in caso di presenza di abbondante tessuto mixoide, con deformazione di tutto il lembo valvolare e interessamento delle corde tendinee.

Immunoistochimica

Ricerca dei tipi di collagene I, III e IV

Per eseguire l'indagine immunoistochimica sono stati selezionati 12 lembi tricuspидali intatti (4 settali, 4 parietali e 4 angolari). Sono state analizzate le positività anticorpali al collagene di tipo I, III e IV e la loro distribuzione nei 4 strati (*atrialis*, spongiosa, fibrosa e *ventricularis*) delle tre porzioni (prossimale, media e distale) dei lembi valvolari. Sezioni di 4 µm sono state sparaffinate, trattate con perossido di idrogeno, riscaldate in soluzione tampone citrato e incubate per 60 minuti con l'anticorpo primario. È stato utilizzato un anticorpo biotinilato seguito da un coniugato streptavidina-biotina-perossidasi (Envision Detection System Peroxidase/DAB+, Dako) impiegando il cromogeno 3'-3'-diaminobenzidina-tetracloruro e come colorazione di contrasto l'Ematossilina di Mayer.

Analisi biochimica

Estrazione dei glicosamminoglicani (GAGs) e analisi quantitativa

Per l'analisi biochimica sono state considerate le sezioni mediane di 13 lembi valvolari tricuspидali. I tessuti sono stati pesati, omogeneizzati in tampone 0.1 M Na-acetato + EDTA 0.005 M pH 7.5 e sottoposti a digestione enzimatica mediante papaina cristallizzata (Boehringer) per 48 ore a 40 °C. Si è effettuata poi una deproteinizzazione mediante acido tricloroacetico al 50% seguita da centrifugazione a

10.000 rpm per 15' a 4°C. Il surnatante è stato raccolto e la precipitazione dei GAGs è stata effettuata aggiungendo 3 volumi di una soluzione formata da etanolo assoluto + potassio acetato 100%. I campioni sono stati tenuti a -20°C per una notte e quindi centrifugati a 12.000 rpm per 20 minuti. Il surnatante è stato eliminato e il precipitato contenente i GAGs è stato risospeso con acqua distillata in rapporto al peso fresco del tessuto di partenza. I GAGs sono stati analizzati quantitativamente con il metodo di Bitter e Muir [6] utilizzando glucuronolattone come standard. La concentrazione è stata espressa come µg di acido uronico per g di tessuto fresco.

Analisi statistica

In rapporto ai dati ottenuti dall'esame macroscopico ed istologico è stata valutata la presenza di degenerazione mixomatosa nel gruppo dei giovani e degli anziani con il *Mann Whitney test*. Considerando la quantità limitata di animali nei due gruppi considerati, i dati sono stati analizzati anche per mezzo del coefficiente di correlazione di Spearman ρ , al fine di indagare la presenza di correlazione tra i punteggi attribuiti e l'età degli animali. Quindi è stato evidenziato il diverso grado di degenerazione mixomatosa tra lembo settale ed angolare e tra lembo settale e parietale con il *Wilcoxon Signed Rank test* in tutti i soggetti. In seguito, è stata analizzata la quantità di GAGs nel gruppo dei giovani e degli anziani in rapporto ai dati ottenuti dall'esame biochimico con il *T test di Student per gruppi indipendenti*. È stata analizzata la differenza tra la quantità di GAGs contenuti in ciascuna cuspidale settale (S) e la quantità di GAGs contenuti rispettivamente in ciascuna cuspidale angolare (A) e parietale (P). I valori medi relativi ai due parametri considerati (S-A ed S-P) sono stati testati con il *T test di Student per dati appaiati*. Per effettuare l'analisi statistica sono stati utilizzati i programmi Microsoft Office Excel e SAS System su sistema operativo Windows.

RISULTATI

Analisi macroscopica

Una significativa degenerazione valvolare è stata osservata in circa la metà dei soggetti

appartenenti ad entrambi i gruppi considerati. È stata analizzata la morfologia dei lembi valvolari della cuspidi settale: i lembi normali presentavano cuspidi lisce e lucide, mentre nei lembi patologici erano visibili bordi ispessiti, opachi e arricciati. Inoltre, la cuspidi settale si è dimostrata più colpita rispetto alle altre due. Il lembo settale è apparso più spesso e più biancastro degli altri, che normalmente si presentavano più sottili, regolari e trasparenti. Si è considerato il lembo settale con una lesione di grado "1" quando si evidenziavano aree multifocali, irregolari, ispessite e biancastre vicino al bordo libero. Si è considerata la lesione di grado "2" quando le aree ispessite e irregolari si diffondevano dal bordo libero alla porzione centrale e, infine, è stato assegnato il grado "3" quando il lembo valvolare appariva diffusamente ispessito, irregolare, con margini arrotolati o con rotture delle corde tendinee.

Analisi istologica e istochimica

In questo studio è stata valutata la distribuzione della degenerazione mixomatosa nei lembi valvolari delle tre cuspidi: le analisi hanno evidenziato che il lembo valvolare della cuspidi settale in entrambi i gruppi si presenta più ricco di depositi di tessuto mixomatoso rispetto ai lembi delle cuspidi angolare e parietale. In particolare, dividendo ogni cuspidi in tre porzioni (prossimale, media e distale), all'osservazione microscopica si è osservato che il processo degenerativo colpisce principalmente la parte distale del lembo valvolare, ma quando la MVC è moderata o grave, principalmente nelle cuspidi settali, il tessuto mixomatoso si estende anche alla porzione media e prossimale del lembo valvolare, spesso coinvolgendo le corde tendinee.

Analisi immunoistochimica

Tutti i 12 lembi valvolari considerati sono risultati positivi ai tre diversi collagene testati. La distribuzione del collagene I, III e IV si è mostrata simile in ogni cuspidi in tutto lo spessore del lembo, più concentrata nello strato sub-endoteliale, tra *atrialis* e spongiosa e nella fibrosa, estendendosi anche alle corde tendinee. È stata analizzata la distribuzione del collagene nelle porzioni distale, media e prossimale dei lembi valvolari, valutando il mantenimento

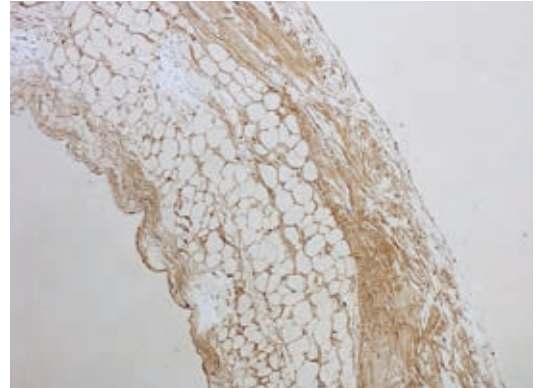


Foto 8. Sezione immunoistochimica della porzione prossimale di una cuspidi angolare. È visibile la stratigrafia della cuspidi e la prevalenza del collagene di tipo I tra *atrialis* e spongiosa e nella fibrosa (10x).

della normale stratigrafia e l'organizzazione del collagene. In ogni porzione valvolare distale si è osservata la perdita della normale stratificazione, con fibre di collagene fortemente disorganizzate. Nelle cuspidi affette da MVC si è osservata una diminuzione delle fibre collagene e quelle rimaste sono apparse disgregate, soprattutto nella fibrosa. Inoltre la fibrosa della cuspidi settale è apparsa più ricca di collagene III e proteoglicani rispetto a quella delle cuspidi angolare e parietale, più ricche di collagene di tipo I (foto 8).

Analisi biochimica

Il tessuto mixomatoso è composto principalmente da proteoglicani, cioè proteine a cui sono legati i GAGs, molecole fortemente anioniche la cui funzione biologica è quella di fornire idratazione e pressione di rigonfiamento al tessuto, permettendo una resistenza alle forze di compressione [14]. Dalle analisi effettuate in questo lavoro la quantità di GAGs in 8 casi sui 13 analizzati è risultata maggiore nei lembi valvolari settali rispetto a quelli parietali e angolari, confermando i risultati ottenuti dagli esami istologici.

Analisi statistica

La presenza di MVC per quanto riguarda i risultati macroscopici e istologici non si è rivelata statisticamente significativa nei due gruppi considerati, utilizzando sia il test di Mann Whitney che il ρ di Spearman. Nessuna differenza per quanto riguarda la presenza di endocardiosi è stata rilevata in

CARDIOLOGIA CANINA

relazione all'età dei cani. Al contrario, la differenza nel grado di degenerazione mixomatosa tra il lembo valvolare settale e quello angolare (S-A) e tra il lembo valvolare settale e quello parietale (S-P) all'interno di ogni soggetto si è dimostrata statisticamente significativa, indicando un grado maggiore di gravità della MVC nella cuspidi settale.

La differenza nella quantità di GAGs tra il gruppo 1 e il gruppo 2, così come la correlazione con la ρ di Pearson, non è risultata statisticamente significativa. Tuttavia, quando è stato eseguito un test τ appaiato, la quantità di GAGs nel lembo settale è risultata significativamente più alta rispetto a quelli angolare e parietale, a dimostrazione di un maggiore contenuto di GAGs nella cuspidi settale rispetto alle altre due cuspidi.

DISCUSSIONE

La valvola tricuspide canina ha ricevuto fino ad oggi poca attenzione in letteratura: il primo lavoro in grado di fornire una descrizione macroscopica e microscopica delle valvole atrioventricolari nel cane risale al 1976 ad opera di Buchanan [9]. In questa ricerca, l'Autore ha descritto le maggiori differenze tra VM e VT, che riguardano principalmente il numero di cuspidi, lo spessore del foglietto della tricuspide settale e l'estensione delle fibre miocardiche nel lembo tricuspide settale prossimale [9]. Nel 2008 Alves *et al.* [3] hanno pubblicato il primo studio morfologico e morfometrico sulla VT canina. In questo lavoro, eseguito su 45 cani, è stata misurata la larghezza alla base delle cuspidi e la loro profondità: la cuspidi settale ha mostrato la maggiore lunghezza e larghezza rispetto a quelle angolare e parietale, ma non ci sono riferimenti allo spessore della cuspidi o a differenze macroscopiche tra le diverse cuspidi. Anche Aupperle *et al.* nel 2009 e nel 2010 hanno pubblicato due studi istomorfologici riguardanti la distribuzione dei componenti della matrice extracellulare nelle cuspidi di valvole tricuspide di cane normali e patologiche, in cui sono state descritte differenze istologiche e immunostochimiche tra lembi valvolari sani e lembi colpiti da MVC [1, 2].

Nel presente lavoro si è voluto indagare la morfologia della VT e analizzare dal punto di vista immunoistochimico e biochimico i lembi valvolari della VT di cani adulti e anziani, valutando il processo degenerativo e le differenze tra i lembi settali, angolari e parietali. Si è dimostrata l'esistenza di significative variazioni macroscopiche e microscopiche tra la cuspidi settale e le altre due cuspidi: all'esame macroscopico il lembo settale appare più spesso di quelli angolare e parietale sia nei cani anziani che nei giovani-adulti. L'analisi istologica e quella immunoistochimica hanno permesso la classificazione della MVC, evidenziando la disorganizzazione delle fibre collagene e la presenza di tessuto mixomatoso. Come già accennato, i lembi angolare e parietale della valvola appaiono generalmente divisi in quattro strati distinti e ben differenziati tra loro, mentre il lembo settale istologicamente non presenta lo stesso grado di stratificazione: questo potrebbe spiegare il suo spessore macroscopico sia nei cani giovani che in quelli anziani [1, 2, 6, 9, 17]. Inoltre, all'esame microscopico i lembi settali di cani giovani-adulti e anziani presentano un grado più elevato di MVC, seguiti dai lembi parietali e infine da quelli angolari, confermando il risultato dell'analisi macroscopica. Con lo studio statistico (Wilcoxon signed rank test) si è dimostrato che il grado medio di degenerazione mixomatosa nei tre lembi valvolari tricuspideali risulta essere: lembo settale = 1,76, lembo parietale = 0,53 e lembo angolare = 0,35 (0 = valore normale, 1 = valore medio, 2 = valore moderato, 3 = valore grave di MVC). Studi precedenti avevano dimostrato differenze nella MVC tra lembo settale e parietale ma non avevano considerato il lembo angolare, confrontandolo anche tra cani giovani e adulti [1, 2, 6, 17].

Presumibilmente non c'è una sola ragione per spiegare le differenze tra i diversi lembi valvolari. La peculiarità strutturale del lembo settale potrebbe essere anatomica, dovuta ad un diverso percorso di sviluppo embriogenetico, oppure legata a un maggiore stress emodinamico nel distretto settale rispetto alla regione ventricolare libera. Questo studio conferma l'esistenza di alcune differenze nella patogenesi della degenerazione mixomatosa nella valvola tricuspide e mitrale, come Aupperle e coll. avevano

già osservato [1, 2]. Inizialmente la degenerazione della VT coinvolge solo la porzione distale delle cuspidi ma quando aumenta la gravità si estende alle aree centrali e prossimali, come si osserva nella VM, dove spesso l'intero foglietto della valvola appare ispessito e deformato [9, 24].

Rimane ancora poco chiaro se il meccanismo patogenetico della malattia sia lo stesso in entrambi i settori del cuore e perché nel cuore destro assuma un'estensione limitata e abbia una progressione più lenta [28, 37]. La matrice valvolare extracellulare è costituita da fibre di collagene, fibre elastiche, fibronectina, proteoglicani, metalloproteinasi di matrice (MMPs) e i loro inibitori specifici (TIMP). Questi componenti formano un ambiente dinamico che gioca un ruolo cruciale nella regolazione del meccanismo cellulare e nella manutenzione del funzionamento valvolare e sono estremamente importanti per la comprensione della patogenesi della malattia valvolare cronica sia nella VM che nella VT. Il collagene e le fibre elastiche supportano i lembi della valvola, permettendo la resistenza alle forze di trazione, e la fibronectina influenza l'adesione delle fibre e il meccanismo di migrazione [11, 13]. I GAGs sono invece responsabili del mantenimento dell'idratazione e del trofismo cellulare in una struttura per lo più priva di vasi sanguigni [16, 18, 25, 27, 39]. Aupperle *et al.* [1, 2] nelle loro due indagini sulla distribuzione dei componenti della matrice extracellulare nei lembi valvolari normali e degenerati della tricuspide di cane avevano già dimostrato che

il lembo tricuspide settale contiene meno fibre di collagene di tipo I, sostituite principalmente da fibre di collagene di tipo III, e più proteoglicani rispetto al lembo parietale. Si deve tenere presente che le fibre di collagene di tipo I sono in grado di sopportare meglio le forze di trazione rispetto al collagene di tipo III, che è meno resistente, e questo potrebbe giustificare la minore resistenza a forti stress biomeccanici del lembo settale della tricuspide [1, 2, 22]. L'indagine immunostochimica nel presente lavoro conferma i risultati di questi autori. Inoltre, per meglio quantificare il tessuto mixomatoso e di conseguenza la MVC, sono state eseguite le analisi biochimiche per dosare la presenza di GAGs nei tre lembi valvolari. La quantità di GAGs in 8 casi su 13 analizzati è risultata maggiore nel lembo valvolare settale e, poiché i GAGs sono responsabili del rigonfiamento e dell'idratazione della valvola [24, 39], è probabile che il loro aumento, insieme alla diminuzione del collagene di tipo I a vantaggio del collagene di tipo III, indebolisca questo lembo valvolare, riducendo la sua capacità di resistere alle forze di tensione.

Questo lavoro ha confermato analogie strutturali, istologiche e biochimiche tra la malattia degenerativa della valvola tricuspide e della valvola mitrale. Ulteriori studi potrebbero chiarire se i diversi aspetti di questa stessa patologia nelle due valvole siano conseguenti alle diverse condizioni emodinamiche che caratterizzano i settori destri e sinistri del cuore o ad altri meccanismi patogenetici.

RIASSUNTO

Lo scopo di questo studio è stato quello di indagare le caratteristiche morfologiche, immunostochimiche e biochimiche dei lembi della valvola tricuspide del cane, confrontando tessuti valvolari sani e tessuti affetti da MVC (malattia valvolare cronica) prelevati da soggetti giovani e anziani. Nel lavoro sono stati inclusi due gruppi di cani di taglia medio-grande suddivisi in giovani-adulti fino a 8 anni (gruppo 1) e adulti oltre gli 8 anni (gruppo 2).

All'esame macroscopico delle valvole cardiache sono stati osservati quadri di MVC in circa il 50% dei campioni sia nel gruppo 1 che nel gruppo 2. All'esame microscopico si è potuta osservare una forma di MVC in circa il 70% dei campioni nei due gruppi coinvolti; in entrambe le categorie di soggetti la cuspidi settale della valvola tricuspide è risultata la più interessata. Questi dati sono stati confermati dall'analisi immunostochimica e biochimica, in cui si è anche potuta constatare una maggior quantità di collagene disorganizzato e di glicosaminoglicani (GAGs) nella cuspidi settale rispetto a parietale ed angolare.

Parole chiave: valvola tricuspide, malattia degenerativa valvolare cronica, glicosaminoglicani, cane.

SUMMARY

Morphologic, immunohistochemical and biochemical investigation of normal and degenerated tricuspid valves in young and adult dogs

The aim of this work is to investigate morphological, immunohistochemical and biochemical features in canine tricuspid valve, in particular making a comparison between tissues of young and older dogs affected by CVD (Chronic Valvular Disease). The study included two groups of medium-large dogs divided into young adults up to 8 years old (group 1), and adults over 8 years old (group 2). At macroscopic examination, CVD is detected in about 50% of subjects in both groups, 1 and 2. At microscopic examination, CVD is found in about 70% of subjects in group 1 and 2; in both categories, the septal leaflet of the tricuspid valve is the most affected one. Immunohistochemical and biochemical analysis supported these data, and, through them, it has been possible to ascertain a greater quantity of disorganized collagen and glycosaminoglycans (GAGs) in tricuspid septal valve leaflet compared to parietal and angular leaflets.

Keywords: tricuspid valve, chronic valvular disease, glycosaminoglycans, dog.

Bibliografia

1. Aupperle H, März I, Thielebein J, Kiefer B, Dinges G, Schoon HA. Distribution of extracellular matrix components in normal and degenerated canine tricuspid valve leaflets. *Journal of comparative pathology*. 2009; 141:41-45.
2. Aupperle H, März I, Thielebein J, Dinges G, Schoon HA. Histomorphological findings and expression of matrix metalloproteinases and their tissue specific inhibitors (TIMPs) in normal tricuspid valves and in chronic tricuspid valvular disease in dogs. *Veterinary journal*. 2010;183: 176-183.
3. Alves JR, Wafae N, Beu CC, Tuzuki LC, Ruiz CR, Wafae GC. Morphometric study of the tricuspid valve in dogs. *Anatomia, histologia, embryologia*. 2008; 37:427-429.
4. Baade S, Aupperle H, Grevel V, Schoon HA. Histopathological and immunohistochemical investigations of hepatic lesions associated with congenital portosystemic shunt in dogs. *Journal of Comparative Pathology* 2006; 134(1):80-90.
5. Barone R. Angiologia, parte prima cuore e arterie. Vol. 5°. In: *Anatomia comparata dei mammiferi domestici*. Ed. italiana a cura di Bortolami R, Callegari E. Edagricole. Bologna, 1993.
6. Bassett AL, Fenoglio JJ Jr, Wit AL, Myerburg RJ, Gelband H. Electrophysiologic and ultrastructural characteristics of the canine tricuspid valve. *American journal of physiology*. 1976; 230:1366-1373.
7. Bitter T, Muir HM. A modified uronic acid carbazole reaction. *Analytical biochemistry*. 1962; 4:330-334.
8. Borgarelli M, Buchanan JW. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:93-101.
9. Buchanan JW. Chronic valvular disease (endocardiosis) in dogs. *Advances in veterinary science and comparative medicine*. 1977; 21:75-106.
10. Chan KM, Zakkar M, Amirak E, Punjabi PP. Tricuspid valve disease: pathophysiology and optimal management. *Progress in cardiovascular diseases*. 2009; 51:482-486.
11. Davies MJ, Moore BP, Braimbridge MV. The floppy mitral valve. Study of incidence, pathology, and complications in surgical, necropsy, and forensic material. *British heart journal*. 1978; 40:468-481.
12. Ettinger SJ, Feldman EC, and Cote E. *Textbook of Veterinary Internal Medicine Expert Consult*, 8th Edition. Saunders, 2017
13. Fayet C, Bendeck MP, Gotlieb AI. Cardiac valve interstitial cells secrete fibronectin and form fibrillar adhesions in response to injury. *Cardiovascular pathology: the official journal of the society for cardiovascular pathology*. 2007; 16:203-211.
14. Fawzy H, Fukamachi K, Mazer CD, Harrington A, Latter D, Bonneau D, Errett L. Complete mapping of the tricuspid valve apparatus using three-dimensional sonomicrometry. *The journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2011; 141:1037-1043.
15. Fox PR. Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. *J Vet Cardiol* 2012; 14:103-126.
16. Gandhi NS, Mancera RL. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. *Chemical biology and drug design*. 2008; 72: 455-482.
17. Gross L, Kugel MD and MA. Topographic anatomy and histology of the valves in the human heart. *The American journal of pathology*. 1931; 7(5):445-474.
18. Iozzo RV. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annual review of biochemistry*. 1998; 67: 609-652.
19. Kogure K. Pathology of chronic mitral valvular disease in the dog. *Nihon Juigaku Zasshi. The Japanese journal of veterinary science*. 1980; 42: 323-335.
20. Lange FJ, Moorman AF, Anderson RH et al. Lineage and morphogenetic analysis of the cardiac valves. *Circulation Research*. 2004 Sep 17; 95(6):645-654.
21. Lincoln J, Alfieri CM, Yutzey KE. Development of heart valve leaflets and supporting apparatus in chicken and mouse embryos. *Developmental Dynamics*. 2004 Jun; 230(2):239-50.
22. Moore L, Fan D, Basu R, Kandalam V, Kassiri Z. Heart Fail Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) in heart failure. *Heart failure reviews*. 2012; 17: 693-706.
23. Nickel R, Schummer A, Seiferle E. *Sistema vascolare: cuore*. In: *Trattato di anatomia comparata degli animali domestici*. 3a Ed. italiana a cura di Aureli G., Lørvik S. Ed. Ambrosiana. Milano, 1992.
24. Pomerance A. Ballooning deformity (mucoid degeneration) of atrioventricular valves. *British heart journal*. 1969; 31:343-51.
25. Poole AR. Proteoglycans in health and disease: structures and functions. *The biochemical journal*. 1986; 236:1-14.
26. Rabkin E, Aikawa M, Stone JR, Fukumoto Y, Libby P, Schoen FJ. Activated interstitial myofibroblasts express catabolic enzymes and mediate matrix remodeling in myxomatous heart valves. *Circulation*. 2001; 104:2525-2532.
27. Schwartz N. Biosynthesis and regulation of expression of proteoglycans. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*. 2000; 5D:649-555.
28. Shah PM, Raney AA. Tricuspid valve disease. *Current problems in cardiology*. 2008; 33:47-84
29. Sisson D, Kwart C, Darke PGG. Acquired valvular heart disease in dogs and cats. In: Fox PR, Moise NS, Evans HE, Bishop SP. *Textbook of canine and feline cardiology: principle and clinical practice*. 2a Ed. W.B. Saunders company. Philadelphia 1999; Chapter 25.
30. Spadaccio C, Mozetic P, Nappi et al. Cells and extracellular matrix interplay in cardiac valve disease: because age matters. *Basic Research in Cardiology*. 2016; 111(2):16.
31. Stevanella M, Votta E, Lemma M, Antona C, Redaelli A. Finite element modelling of the tricuspid valve: A preliminary study. *Medical engineering and physics*. 2010; 32:1213-1223.
32. Taramasso M, Vanermen H, Maisano F, Guidotti A, La Canna G, Alfieri O. The growing clinical importance of secondary tricuspid regurgitation. *Journal of the American college of cardiology*. 2012; 59:703-710.
33. Taylor PM, Batten P, Brand NJ, Thomas PS, Yacoub MH. The cardiac valve interstitial cell. *The international journal of biochemistry and cell biology*. 2003; 35:113-118.
34. Victor S, Nayak VM. The tricuspid valve is bicuspid. *Journal of heart valve disease*. 1994; 3:27-36.
35. Villavicencio Guzmà L, Valencia Mayoral P, Paez Valencia J, Sadowinski Pine S, Sánchez Gomez C. Developmental pattern of the right atrioventricular septal valve leaflet and tendinous cords. *The anatomical record*. 2010; 293:55-61.
36. Whitney JC. Cardiovascular pathology. *The journal of small animal practice*. 1967;8:459-465
37. Whitney JC. Observations on the effect of age on the severity of heart valve lesions in the dog. *The journal of small animal practice*. 1974; 15:511-522.
38. Wouter H, Lamers, MD, PhD; Szabolcs Virágh, MD, PhD; Andy Wessels, PhD. Formation of the Tricuspid Valve in the Human Heart. *Circulation*. 1995; 91: 111-121.
39. Yanagishita M. Function of proteoglycans in the extracellular matrix. *Acta Pathologica Japonica*. 1993;43(6):283-293.

SCHIUMA SPRAY
PER CANI E GATTI

Deroxen

Per il trattamento delle piodermiti di superficie
anche come monoterapia



**DEROXEN SCHIUMA È UN MEDICINALE VETERINARIO
SENZA OBBLIGO DI PRESCRIZIONE**

Per la sua vendita non è necessaria né obbligatoria la Ricetta Elettronica Veterinaria e il Farmacista non può e non deve richiederla, come previsto dal D.L.vo n.193/2006 art. 70 c. 1.

Teknofarma
www.teknofarma.com

Per approfondimenti, è possibile consultare il lavoro scientifico alla pagina
teknofarma.com/deroxenschiuma/studioclinico.pdf



ALAIN FONTBONNE, XAVIER LEVY, EMMANUEL FONTAINE, CATHERINE GILSON

GUIDA PRATICA DI RIPRODUZIONE CLINICA DEL CANE E DEL GATTO

EDIZIONE ITALIANA A CURA DI **Angela Polisca**

RISTAMPA

*Conoscere e riconoscere
gli aspetti fisiopatologici della
riproduzione nei piccoli
animali: un valido
aiuto per una corretta
gestione dei casi clinici
che offre un panorama
ampio e rapidamente
accessibile delle
ultime conoscenze e
applicazioni pratiche.*



- ✓ Edizione ottobre 2011
- ✓ 288 pagine
- ✓ Cartonato, 166 x 240 mm
- ✓ Illustrazioni a colori

Prezzo di copertina: € 79,00

Prezzo Club*: € 75,05



*Limite massimo consentito dalla legge

* Club degli abbonati ai periodici di PVI

Spese di spedizione escluse

PER ORDINARE IL VOLUME



direttamente on line sul sito www.pointvet.it



inviando una mail a: diffusionelibri@pointvet.it



**telefonando allo 02/60 85 23 32
(dal lunedì al venerdì dalle 9.00 alle 13.00 e dalle 14.00 alle 18.00)**



POINT VETERINAIRE ITALIE Via Eritrea 21 - 20157 Milano