

La malattia valvolare mitralica cronica nel cane



Serena Crosara, Med Vet, PhD,
Dipl ECVIM-CA Cardiology
Dipartimento Scienze Medico
Veterinarie, Parma (PR)



Michele Borgarelli*, Med Vet, PhD,
Dipl ECVIM-CA Cardiology
Dept Small Animal Clinical
Sciences, Virginia Tech,
Blacksburg, Virginia, USA

La malattia mitralica cronica è la malattia cardiovascolare acquisita più comune nel cane e per questi motivi è frequente oggetto di studio. L'evoluzione della patologia è tendenzialmente benigna con una lunga fase asintomatica. Sebbene la malattia sia stata oggetto di numerose ricerche, i meccanismi patogenetici presentano ancora molti punti oscuri. È stato suggerito che la serotonina possa avere un ruolo importante nella degenerazione mixomatosa della valvola. La chirurgia riparativa della mitrale è stata recentemente introdotta in medicina veterinaria e i risultati preliminari appaiono incoraggianti e potrebbe rappresentare la nuova frontiera terapeutica. L'ecografia tridimensionale rappresenta una nuova promettente metodica per lo studio morfo-funzionale della valvola ed un importante ausilio alla chirurgia.

LA MALATTIA MITRALICA CRONICA: EZIOLOGIA, NOMENCLATURA E CLASSIFICAZIONE.

La malattia valvolare mitralica cronica secondaria a degenerazione mixomatosa (MMC) è la patologia cardiovascolare acquisita più comune nel cane. La malattia è più frequente nei cani anziani di piccola taglia e in alcune razze, come il Cavalier King Charles Spaniel (CKCS), è stata riportata una prevalenza del 100% nei soggetti di età maggiore di 10 anni^{1,2,3,4}. Nonostante la MMVD sia diagnosticata con maggiore frequenza nei cani di piccola e media taglia, anche i cani di grossa taglia possono esserne affetti. In queste razze la presentazione clinica, la storia naturale e le lesioni valvolari presentano alcune differenze rispetto ai cani di piccola taglia^{5,6}. L'eziologia della malattia non è ancora stata definitivamente determinata. Nel CKCS e nel Bassotto è stata descritta una componente genetica, la cui modalità di trasmissione è probabilmente poligenica^{7,8}. Tali ipotesi appaiono supportate dal fatto che studi recenti su larga scala condotti nel Regno Unito nel CKCS non sono stati in grado di identificare il gene responsabile della trasmissione della malattia. Questi stessi studi hanno inoltre dimostrato che la malattia diagnosticata

mediante il rinvenimento di un soffio all'auscultazione cardiaca in CKCS di età compresa tra i 4 ed i 5 anni è altamente ereditaria^{9,10}.

Le prime descrizioni della MMC nel cane risalgono agli inizi del diciannovesimo secolo¹¹. Da quel momento la malattia è stata definita con terminologie diverse che includono: endocardite valvolare cronica fibrosa (nodosa)¹², endocardite valvolare cronica¹³, malattia valvolare cronica¹⁴, "billowing" valvolare¹⁵, endocardiosi¹⁶, sclerosi senile nodulare¹⁷, degenerazione mucoide¹⁸, degenerazione mixomatosa cronica¹⁹ e malattia degenerativa della mitrale²⁰. Sebbene la terminologia sia eterogenea, tutte le definizioni della malattia ne sottolineano la natura degenerativa e cronica. Da un punto di vista macroscopico le lesioni valvolari sono state classificate da Pomerance and Whithney in 4 tipi in base alla gravità ed all'esten-

La MMVD è causata da una degenerazione mixomatosa che colpisce principalmente le valvole atrioventricolari. L'eziologia è multifattoriale, nel Bassotto e nel CKCS è stata dimostrata una componente genetica.

* Corresponding Author (mborgarelli@gmail.com)

Ricevuto: 20/11/2014 - Accettato: 10/03/2015

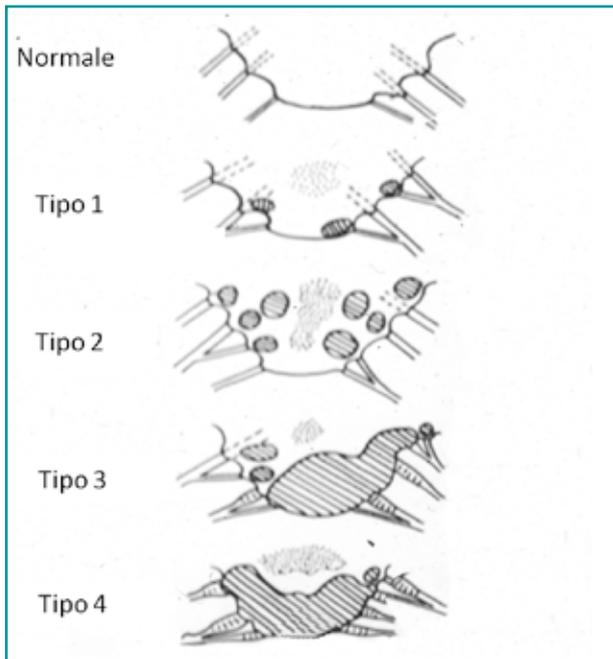


Figura 1 Classificazione di Pomerance e Whitney delle lesioni valvolari mitraliche nel cane. Le aree tratteggiate rappresentano le aree di ispessimento nodulare (tipo 1 e 2) o di ispessimento esteso con ridondanza valvolare (tipo 3 e 4). Le aree punteggiate rappresentano le aree di opacità determinate dalla degenerazione mixomatosa della valvola (Da Borgarelli M e Crosara S. *Malattia cronica mitralica* in Santilli RA, Bussadori C, Borgarelli M *Manuale di Cardiologia del cane e del gatto*; pp 153-164, Elsevier, Milano 2012).

sione delle stesse (figura 1)²¹. Le lesioni di tipo 1 e 2 sono caratterizzate da ispessimenti localizzati con lesioni nodulari di piccole dimensioni, ispessimenti dei lembi più gravi con prollasso e “billowing” della valvola vengono classificate come lesioni di tipo 3 mentre il coinvolgimento delle corde tendinee con eventuale rottura di queste sono classificate come lesioni di tipo 4. Da un punto di vista istologico, la MMVD è caratterizzata da un aumento della cellularità valvolare con evidente espansione della spongiosa e disorganizzazione della struttura valvolare secondaria alla differenziazione delle cellule endoteliali (VEC) ed interstiziali (VIC)^{22,23,24,25}.

Nel 2009 è stato pubblicato un documento da parte della specialità di cardiologia dell’American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) con l’intento di fornire le linee guida per la diagnosi, la classificazione e la terapia della MMC nel cane. In questo documento è stato introdotto per la prima volta il concetto di paziente “a rischio” di sviluppare MMC ma non ancora malato. In questa stadio (ACVIM A) rientrano i cani di razze a rischio. L’introduzione della stadio A della malattia è quello di sottolineare la necessità di monitorare e di eseguire uno screening periodico nei soggetti delle razze considerate predisposte per lo sviluppo della patologia quali il CKCS. Lo stadio ACVIM B com-

prende invece quei pazienti in cui la malattia è stata diagnosticata ma che non presentano sintomi clinici di scompenso cardiaco sinistro quali dispnea e intolleranza all’esercizio fisico. Le linee guida sottolineano che sebbene la diagnosi MMVD possa essere sospettata mediante l’auscultazione di un soffio apicale sinistro sistolico o di un click mesosistolico, la conferma diagnostica richiede un esame ecocardiografico. L’esame ecocardiografico, nell’opinione degli autori, deve essere considerato la metodica di scelta per la diagnosi definitiva della malattia. I pazienti nello stadio B della malattia sono ulteriormente divisi in due sottogruppi in base all’assenza (ACVIM B1) o alla presenza (ACVIM B2) di segni radiografici e/o ecografici di rimodellamento cardiaco, rappresentati da ingrandimento atriale e ventricolare sinistro. È importante ricordare che i cani in stadio B2 della malattia possono presentare un grado di rimodellamento molto variabile, con soggetti che mostrano un lieve rimodellamento ed altri con grave ingrandimento atrio ventricolare e, di conseguenza, ad elevato rischio di scompenso (figura 2).

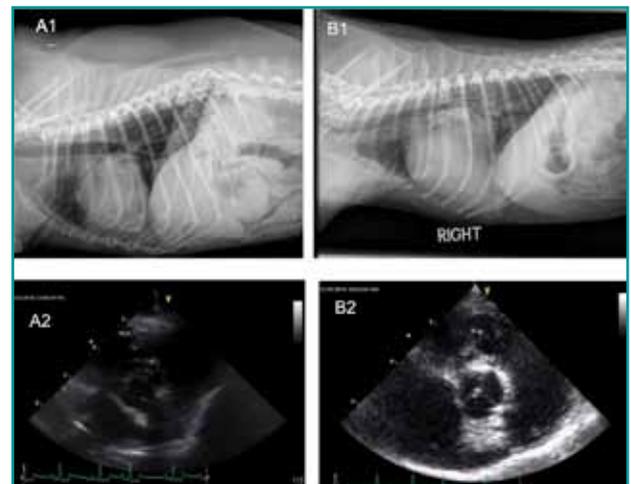


Figura 2 Immagini radiografiche ed ecocardiografiche di due cani in stadio B2 ACVIM dimostranti l’eterogeneità di questo stadio. A1 e A2 evidenziano un lieve ingrandimento atriale sinistro, mentre le immagini B1 e B2 la presenza di un grave ingrandimento atriale e ventricolare sinistro. Entrambi i cani erano asintomatici.

Lo stadio ACVIM C comprende i cani che presentano segni clinici o radiografici di scompenso cardiaco. I cani che continuano a manifestare segni clinici di scompenso nonostante siano trattati con alte dosi di diuretici ed altri farmaci, sono classificati come stadio ACVIM D²⁶.

La MMC è stata, ed è tuttora, oggetto di largo interesse scientifico non solo per la sua ampia diffusione nella popolazione canina, ma anche per le numerose similitudini con la malattia mitralica nell’uomo, di cui può rappresentare un modello naturale^{27,28}.

LA VALVOLA MITRALE: ANATOMIA, BIOMECCANICA E DEGENERAZIONE MIXOMATOSA

L'apparato valvolare mitralico è una struttura complessa che comprende l'annulus valvolare, l'atrio sinistro, i lembi valvolari (anteriore e posteriore), le corde tendinee, i muscoli papillari e la parete ventricolare associata ad essi²⁹. Nel cane l'annulus mitralico ha forma variabile, da circolare ad ellissoidale. Il lembo mitralico anteriore, o settale, è più ampio del posteriore e su di esso si inserisce un numero maggiore di corde tendinee, anche se il numero e la distribuzione di esse sui lembi valvolari è molto variabile da soggetto a soggetto³⁰. Tutti i componenti di questo apparato contribuiscono in maniera indipendente e sinergica al funzionamento ottimale della valvola. A sua volta, il corretto funzio-

La nuova classificazione ACVIM dell'insufficienza cardiaca introduce per la prima volta il concetto di cani "a rischio" (ACVIM A) che necessitano screening periodici per monitorare l'evoluzione della malattia.

namento della mitrale permette il mantenimento della funzione sistolica ventricolare sinistra sottolineando l'importanza dell'interazione ventricolo-valvolare³¹. Dal punto di vista istologico, la mitrale è costituita da quattro strati: atrialis, spongiosa, fibrosa e ventricularis. Questi strati si differenziano tra di loro per la composizione della matrice extracellulare (ECM) che conferisce ad ognuno di essi peculiari caratteristiche biomeccaniche. La fibrosa, che è lo strato più spesso, è costituita da un denso strato di collagene che aiuta a sopportare le forze di tensione, mentre la spongiosa possiede alte concentrazioni di glicosaminoglicani e proteoglicani per sopportare le forze di compressione. Atrialis e ventricularis, invece, possiedono un elevato numero di fibre elastiche che permettono alla valvola di tornare alla forma originaria dopo lo stiramento³². Diversi studi, condotti principalmente nella specie ovina e suina, hanno descritto la biomeccanica della valvola mitrale e hanno dimostrato la stretta correlazione tra corde tendinee e lembi valvolari nella distribuzione delle forze di tensione a cui è sottoposto l'apparato valvolare ad ogni ciclo cardiaco³³. La distribuzione tridimensionale dello strain (tensione) sui lembi valvolari avviene non solo grazie alla peculiare disposizione delle corde, ma anche grazie al complesso orientamento delle fibre collagene nel punto d'inserzione delle corde tendinee stesse^{34,35,36}. È stato ipotizzato che cambiamenti nell'equilibrio tra questi componenti, come accade in corso di prolasso valvolare, determinino un'al-

terazione della biomeccanica valvolare, e che questo rappresenti uno stimolo per lo sviluppo della degenerazione valvolare^{36,37,38}. Un recente studio sperimentale nel cane ha dimostrato come l'applicazione di strain ciclici e dinamici sui lembi valvolari stimoli l'espressione di proteine effettrici implicate nella degenerazione mixomatosa valvolare quali la α -actina muscolare liscia (α SMA), la miosina embrionica non muscolare (SMemb), le metalloproteinasi (MMP), il triptofano idrossilasi-1 (TPH1) implicato nella sintesi della serotonina e la catepsina K³⁹. Il riconoscimento del possibile ruolo della serotonina nella patogenesi della MMC ha stimolato molto la curiosità dei ricercatori negli ultimi anni. Nell'uomo, infatti, in corso di sindrome carcinoide si riscontra un notevole aumento dei valori sierici di serotonina che determina una valvulopatia caratterizzata da degenerazione mixomatosa⁴⁰. Nei cani con MMC e nei CKCS normali sono stati riscontrati valori sierici di serotonina più elevati rispetto a cani sani⁴¹. Nei cani affetti da MMC sono stati inoltre evidenziati livelli più elevati di recettori per la serotonina ($5HT_{2B}R$), di THP1 e la down-regulation del trasportatore transmembrana della serotonina (SERT)^{42,43,44}.

In corso di insufficienza mitralica il flusso turbolento del rigurgito mitralico causa denudamento delle VEC e adesione sulla superficie valvolare di piastrine responsabili della produzione di serotonina; questo meccanismo può rappresentare la via per la progressione della MMC. Tuttavia, sebbene numerosi studi abbiano puntato l'attenzione sul ruolo di tali sostanze nel rimodellamento della ECM valvolare in corso di MMC, l'esatto meccanismo attraverso cui uno stimolo meccanico o chimico possa scatenare l'inizio della degenerazione mitralica rimane in gran parte inspiegato^{45,46,47}.

LA FISIOPATOLOGIA E L'ATTIVAZIONE NEURORMONALE: QUANDO?

La MMC causa degenerazione dei lembi valvolari che determina prolasso valvolare ed insufficienza valvolare. Nelle fasi iniziali della malattia la quota di rigurgito è minima e ben tollerata dal sistema cardiovascolare. Con il progredire della patologia il volume rigurgitante aumenta e la gittata cardiaca diminuisce determinando

L'apparato valvolare mitralico è costituito da diverse componenti il cui equilibrio è fondamentale per l'ottimale funzionamento della valvola stessa. Gli stress meccanici a cui è sottoposto possono innescare l'attivazione di sostanze implicate nella degenerazione.

L'attivazione neuroendocrina e l'ipertrofia del muscolo cardiaco. La risposta neuroendocrina comprende l'attivazione del sistema nervoso simpatico (SNS), del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS), dei peptidi natriuretici, del sistema arginina-vasopressina, e delle endoteline. Ogni meccanismo compensatorio agisce efficacemente, in modo più o meno rapido, al fine di ristabilire la portata cardiaca ma con il tempo tali meccanismi contribuiscono alla progressione della malattia⁴⁸. Nonostante molti studi abbiano cercato di chiarire le modalità dell'attivazione neuroormonale in corso di MMC, il momento esatto in cui questi sistemi sono attivati in corso di MMC e la loro interazione presenta ancora molti punti oscuri. Alcuni studi, ad esempio, hanno riportato l'attivazione precoce del SNS. Tuttavia, altri ricercatori hanno mostrato come la frequenza cardiaca non aumenti se non nelle fasi più avanzate della malattia^{49,50,51}, suggerendo che l'attivazione sia più tardiva. Similmente, studi sull'attivazione del RAAS hanno fornito risultati contrastanti e la terapia con farmaci inibitori dell'enzima di conversione (ACE-inibitori) nelle fasi precoci della malattia non si è dimostrata efficace nel ritardare l'insorgenza dello scompenso cardiaco^{52,53}. Questi risultati possono essere spiegati in parte dal fatto che nei cani con insufficienza mitralica indotta sperimentalmente è stata dimostrata un'attivazione tissutale dell'AGII attraverso le vie alternative delle chimasi e callicrenina⁵⁴ sulle quali la terapia con ACE-inibitori ha un effetto minimo o nullo. Inoltre i pazienti asintomatici, come discusso in precedenza, costituiscono un gruppo eterogeneo che comprende cani con malattia lieve ed altri con malattia avanzata pertanto, sebbene racchiusi nella stessa classe di insufficienza cardiaca, è probabile che il grado di attivazione neuro-ormonale sia molto diverso. Questo potrebbe spiegare perché i lavori pubblicati fino ad ora sull'utilizzo di una terapia con ACE-I nei cani con MMC in stadio preclinico della malattia non hanno dimostrato effetti nel rallentare la progressione della patologia^{52,53}.

NUOVE FRONTIERE NELLA MMC

La MMC è una malattia cronica che colpisce i cani anziani, con un'evoluzione tendenzialmente lenta e benigna. È stato riportato che più del 60% dei cani asintomatici con MMC è vivo a 70 mesi dalla diagnosi della malattia⁵⁵. Nei pazienti sintomatici invece la sopravvivenza è

La MMVD è caratterizzata da una lunga fase preclinica in cui vi è già una attivazione dei sistemi neuroormonali. La maggior comprensione di questa fase potrebbe offrire nuove opzioni terapeutiche.

di 28 mesi per i soggetti con insufficienza cardiaca moderata (ACVIM C) e solo 9 mesi per quelli con insufficienza cardiaca grave (ACVIM D)⁵⁶. Nel cane la terapia medica appare in grado di assicurare una buona qualità di vita per un periodo ragionevolmente lungo, tuttavia nell'uomo la riparazione chirurgica della valvola è considerata la modalità d'elezione per il trattamento della MMC. Recentemente la riparazione chirurgica della valvola è anche stata riportata nel cane con risultati che appaiono incoraggianti⁵⁷. Sebbene, la prima segnalazione di sostituzione valvolare nel cane risalgia agli anni settanta⁵⁸, solo nell'ultimo decennio il trattamento chirurgico è diventato un'opzione possibile. Le tecniche riportate in letteratura comprendono l'annuloplastica circonferenziale, la sostituzione delle corde tendinee con corde sintetiche, la riparazione valvolare per apposizione dei lembi (edge-to-edge repair) e l'impianto di valvole protesiche^{57,59,60}. Alcune segnalazioni riportano un'elevata mortalità perioperatoria in seguito ad annuloplastica⁶¹, ma gli studi più recenti riportano un'ottima sopravvivenza perioperatoria⁵⁸ e la risoluzione dell'insufficienza cardiaca congestizia per periodi superiori ai 5 anni in seguito ad annuloplastica associata a sostituzione delle corde tendinee⁶². Da uno studio condotto su 18 cani, sono risultati fattori prognostici positivi per la riuscita della chirurgia il peso corporeo superiore ai 10 kg ed un periodo inferiore ai 6 mesi dall'insorgenza di insufficienza cardiaca⁶³. Nel cane tuttavia l'opzione chirurgica risulta ancora poco accessibile. Tra i fattori limitanti la diffusione di tale trattamento devono essere inclusi la necessità di creare un team chirurgico con esperienza, la disponibilità dell'attrezzatura per la circolazione extracorporea ed i fattori economici.

Recentemente sono divenuti disponibili sistemi ecocardiografici che consentono una ricostruzione in tempo reale tridimensionale (RT3D) del cuore. Tali sistemi consentono di acquisire volumi completi del muscolo cardiaco e grazie alla possibilità di eseguire post processing delle immagini acquisite, consentono di osservare da piani diversi le strutture cardiache e di superare molte delle limitazioni della metodica 2DE. Per quanto concerne la valvola mitralica, l'esame RT3D fornisce un'immagine in tempo reale dell'anatomia mitralica simile a quella che potrebbe vedere un chirurgo. La metodica RT3D in medicina umana si è dimostrata superiore a quella bidimensionale nell'identificare correttamente il prollasso valvolare. L'esame RT3D è meno operativo dipendente e più riproducibile, indipendentemente dall'esperienza dell'operatore; esso consente inoltre di identificare la localizzazione del prollasso nel 92% dei pazienti e permette di migliorare la sensibilità diagnostica nel riconoscere i pazienti affetti da malattia lieve^{64,65}. Infine l'esame RT3D transesofageo è oggi comunemen-

te utilizzato nei centri di referenza per la correzione chirurgica della patologia mitralica in quanto consente un approccio mirato alla chirurgia valvolare⁶⁶. In medicina veterinaria l'ecografia RT3D è di recente introduzione. Tale metodica si è dimostrata superiore all'esame bidimensionale nella valutazione dei volumi atriali sinistri⁶⁷ ed ha permesso di evidenziare che i segmenti medi del ventricolo sono quelli maggiormente responsabili del rimodellamento cardiaco nei cani con MMC⁶⁸. Dati preliminari del nostro laboratorio suggeriscono che tale metodica possa essere di particolare utilità nell'identificare i casi di lieve prolasso valvolare. In particolare, l'uso di software specifici di post processing consente di ottenere informazioni quantitative sulla valvola e di monitorare la progressione delle lesioni (figure 3 e 4). Inoltre, se la correzione chirurgica diventerà una possibile opzione terapeutica, l'ecografia RT3D potrà inoltre fornire al chirurgo informazioni importanti nella valutazione preoperatoria dell'apparato valvolare, della geometria ventricolare e della funzione sistolica del paziente^{68,69,70}.

La riparazione chirurgica e la sostituzione della mitrale rappresentano la nuova frontiera per il trattamento della MMVD. L'ecografia tridimensionale è un ottimo ausilio alla chirurgia.

In conclusione, sebbene la MMC sia la malattia cardiovascolare acquisita più comune nel cane, la sua patogenesi presenta ancora molti aspetti oscuri che richiedono di essere studiati. La chirurgia riparativa della valvola nel cane si è dimostrata una tecnica fattibile e con elevata percentuale di successo per il trattamento della malattia ed è probabile che in futuro essa diventi una delle opzioni terapeutiche per i cani affetti da MMC. Relativamente a questo aspetto, l'implementazione della metodica ecocardiografica tridimensionale nella valutazione dell'apparato mitralico può consentire uno studio più accurato delle lesioni valvolari e di conseguenza aumentare il successo del trattamento chirurgico.

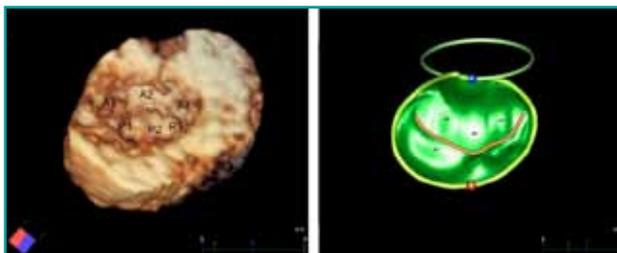


Figura 3 Immagine ecocardiografica 3-D della valvola mitrale in un cane normale. L'immagine a sinistra rappresenta la ricostruzione tridimensionale della valvola. Si noti la suddivisione del lembo anteriore (A) e posteriore (P) in tre segmenti (A1, A2, A3 e P1, P2 e P3) denominati "scallops". L'immagine a destra rappresenta il modello della stessa valvola usando un software per l'analisi parametrica della valvola.

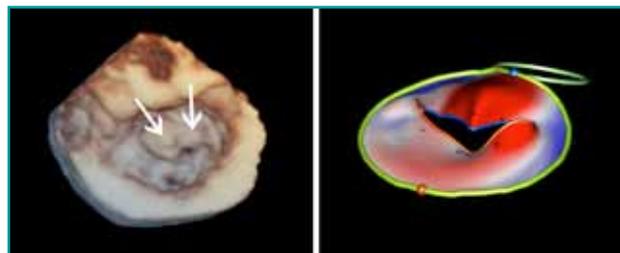


Figura 4 Immagine ecocardiografica 3-D della valvola mitrale in un cane affetto da malattia degenerativa mitralica cronica. L'immagine a sinistra rappresenta la ricostruzione tridimensionale della valvola. Si osserva il prolasso del segmento A2 e A3 (freccie). L'immagine a destra rappresenta il modello della stessa valvola usando un software per l'analisi parametrica della valvola. Le aree rosse individuano le scallops prolassanti A2, A3, e P3. Si osserva anche un prolasso parziale di A1 e P2.

PUNTI CHIAVE

- L'ACVIM Statement ha stabilito le linee guida per la classificazione ed il trattamento della MMC.
- Recenti studi hanno dimostrato come gli stress meccanici cui è sottoposta la valvola determinano l'attivazione di sostanze che portano alla degenerazione mixomatosa. Tra queste sostanze, la serotonina ha attirato la maggior attenzione dei ricercatori.
- Le modalità dell'attivazione neuro-ormonale e il momento in cui questa avviene nel corso della malattia non sono ancora completamente chiari.
- La chirurgia riparativa o sostitutiva della mitrale promette nuovi orizzonti ed una svolta nel trattamento della MMVD.
- L'ecografia tridimensionale, al momento riservata all'ambito della ricerca, può rappresentare un importante ausilio alla chirurgia della mitrale.

Chronic mitral valve disease in the dog

Summary

Myxomatous mitral valve disease (MMVD) is the most common acquired cardiovascular disease in dogs and for this reason it is the subject of many researches. MMVD has a long asymptomatic phase and in many patients does not progress to heart failure. Despite being extensively studied, the pathogenesis of the disease is not completely understood. Recently, surgical valvular repair or mitral valve replacement have been demonstrated being feasible in dog and preliminary results have been encouraging. Real time- echocardiography has been recently introduced in veterinary medicine and preliminary data suggest it can represent a useful tool for studying mitral morphology and function and it might be crucial for surgical treatment.

BIBLIOGRAFIA

- Whitney JC. Cardiovascular pathology. *The Journal of Small Animal Practice* 8(8): 459-465, 1967.
- Buchanan JW. Chronic valvular disease (endocardiosis) in dogs. *Advances in Veterinary Science & Comparative Medicine* 21: 75-106, 1977.
- Detweiler DK, Patterson DF. The prevalence and types of cardiovascular disease in dogs. *Annals of the New York Academy of Sciences* 127: 481-586, 1965.
- Haggstrom J, Hansson K, Kvart C *et al.* Chronic valvular disease in cavalier King Charles spaniel in Sweden. *Veterinary Records* 131(24): 549-553, 1992.
- Borgarelli M, Zini E, D'Agnolo G *et al.* Comparison of primary mitral valve disease in German Shepherd dogs and in small breeds. *Journal of Veterinary Cardiology* 6: 27-34, 2004.
- Borgarelli M, Tarducci A, Zanatta R *et al.* Decreased systolic function and inadequate hypertrophy in large and small breed dogs with chronic mitral valve insufficiency. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21: 61-67, 2007.
- Olsen LH, Fredholm M, Pedersen HD. Epidemiology and inheritance of mitral valve prolapse in Dachshund. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 13: 448-456, 1999.
- Swenson L, Haggstrom J, Kvart C *et al.* Relationship between parental cardiac status in Cavalier King Charles Spaniel and prevalence and severity of chronic valvular disease in offspring. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 208: 2009-2012, 1996.
- French AT, Ogden R, Eland C *et al.* Genome-wide analysis of mitral valve disease in Cavalier King Charles Spaniels. *The Veterinary Journal* 193: 283-286, 2012.
- Lewis T, Swift S, Woolliams JA *et al.* Heritability of premature mitral valve disease in Cavalier King Charles Spaniels. *The Veterinary Journal* 188: 73-76, 2011.
- Blaine D. Canine pathology or a full description of the disease of dogs. London: T Boosey; 1817.
- Munich J. Anatomische Untersuchungen uber Edokarditis valvularis beim Hunde. Diss, Univesitat Muchen, Muchen 1935.
- Detweiler DK. Beobachtungen uber Herskrankheiten des Hundes, *Archiv fur Tierheilkunde* 98: 475-498, 1965.
- Detweiler DK, Patterson DF, Hubben K *et al.* The prevalence of spontaneously occurring cardiovascular disease in dogs. *American Journal of Public Health* 51: 228-241, 1961.
- Oka M, Angrist A. Fibrous thickening with billowing sails distortion of the aging heart valve. *Proceedings New York State Assistance Public Health Laboratories* 46: 21-23, 1961.
- Jubb K, Kennedy P. Pathology of domestic animals. New York: Academic Press; 1963.
- Pomerance A. Pathogenesis of "senile" nodular sclerosis of atrio-ventricular valves. *British Heart Journal* 28 (6): 815-823, 1966.
- Pomerance A. Ballooning deformity (mucoid degeneration) of atrio-ventricular valves. *British Heart Journal* 31(3): 343-351, 1969.
- Haggstrom J, Hansson K, Kvart C *et al.* Relationship between different natriuretic peptides and severity of naturally acquired mitral regurgitation on dogs with chronic myxomatous valve disease. *Journal of Veterinary Cardiology* 2(1): 7-16, 2000.
- Haggstrom J, Pedersen H, Kvart C. New insights into degenerative mitral valve disease in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 34(5): 1209-1226, 2004.
- Pomerance A, Whitney JC. Heart valve changes common to man and dog: a comparative study. *Cardiovascular Research* 4: 61-66, 1970.
- Rabkin E, Aikawa M, Stone JR *et al.* Activated interstitial myofibroblast express catabolic enzymes and mediate matrix remodeling in myxomatous heart valves. *Circulation* 104: 2525-2532, 2001.
- Hadian M, Corcoran BM, Bradshaw JP. Molecular changes in fibrillar collagen in myxomatous mitral valve disease. *Cardiovascular Pathology* 19: e141-e148, 2010.
- Corcoran BM, Black A, McEwan J *et al.* Identification of surface morphologic changes in the mitral valve leaflets and chordae tendinae of dogs with myxomatous degeneration. *American Journal of Veterinary Research* 65: 198-206, 2004.
- Disatian S, Ehrhart III EJ, Zimmerman S *et al.* Interstitial cells from dogs with naturally occurring myxomatous mitral valve disease undergo phenotype transformation. *The Journal of Heart Valve Disease* 17(4): 402-412, 2008.
- ACVIM Consensus Statement. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23: 1142-1150, 2009.
- Aupperle H, Disatian S. Pathology, protein expression and signaling in myxomatous mitral valve degeneration: comparison of dogs and humans. *Journal of Veterinary Cardiology* 14: 59-71, 2012.
- Pedersen HD, Haggstrom J. Mitral valve prolapse in the dog: a model of mitral valve prolapse in man. *Cardiovascular Research* 47(2): 234-243, 2000.
- Perloff JK, Roberts WK. The mitral apparatus. Functional anatomy of mitral regurgitation. *Circulation* 46: 227-239, 1972.
- Borgarelli M, Tursi M, La Rosa G *et al.* Anatomic, histologic, and two-dimensional echocardiographic evaluation of mitral valve anatomy in dogs. *The American Journal of Veterinary Research* 72 (9): 1186-1192, 2011.
- Sarris GE, Miller DC. Valvular-ventricular interaction: the importance of the mitral chordae tendinae in terms of global left ventricular systolic function. *Journal of Cardiac Surgery* 2: 215-234, 1988.
- Connell PS, Han RI, Grande-Allen KJ. Differentiating the aging of the mitral valve from human and canine myxomatous degeneration. *Journal of Veterinary Cardiology* 14: 31-45, 2012.
- Rausch MK, Biothe W, Kvitting J-PE *et al.* In vivo dynamic strains of the ovine anterior mitral valve leaflet. *Journal of Biomechanics* 44: 1149-1157, 2011.
- Kunzelman KS, Cochran RO. Stress/strain characteristics of porcine mitral valve tissue: parallel versus perpendicular collagen orientation. *Journal of Cardiac Surgery* 7:71-78, 1992.
- Padala M, Sacks MS, Liou SW *et al.* Mechanics of the mitral valve strut chordae insertion region. *Journal of Biomechanical Engineering* 132 (8):101-104, 2010.
- Grande-Allen KJ, Calaro A, Gupta V *et al.* Glycosaminoglycans and proteoglycans in normal mitral valve leaflets and chordae: association with regions of tensile and compressive loading. *Glycobiology* 14: 621-633, 2004.

37. Gupta V, Tseng H, Lawrence BD *et al.* Effect of cyclic mechanical strain on glycosaminoglycan and proteoglycan synthesis by heart valve cells. *Acta Biomaterialia* 5: 531-540, 2009.
38. Avierinos J-F, Inamo J, Grigioni F *et al.* Sex differences in the morphology and outcomes of mitral valve prolapse: a color study. *Annals of Internal Medicine* 149: 787-795, 2008.
39. Lacerda CM, MacLea HB, Kisiday JD *et al.* Static and cyclic tensile strain induce myxomatous effector proteins and serotonin in canine mitral valves. *Journal of Veterinary Cardiology* 14: 223-230, 2012.
40. Gustafsson BI, Hauso O, Drozdov I *et al.* Carcinoid heart disease. *International Journal of Cardiology* 129(3): 318-324, 2008.
41. Arndt JW, Reynolds CA, Singletary GE *et al.* Serum serotonin concentration in dogs with degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23: 1208-1213, 2009.
42. Oyama MA, Chittur SV. Genomic expression patterns of mitral valve tissue from dogs with degenerative mitral valve disease. *The American Journal of Veterinary Research* 67: 1307-1318, 2006.
43. Disatian S, Orton EC. Autocrine serotonin and transformin grown factor beta 1 signaling mediates spontaneous myxomatous mitral valve disease. *The Journal of Heart Valve Disease* 18: 44-51, 2009.
44. Scruggs SM, Disatian S, Orton EC. Serotonin trans membrane transporter is down-regulated in late-stage canine degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Cardiology* 12: 163-169, 2010.
45. Ljungvall I, Hoglund K, Lilliehook I *et al.* Serum serotonin concentration is associated with severity of myxomatous mitral valve disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27: 1105-1112, 2013.
46. Orton EC, Lacerda CMR, MacLea HB. Signaling pathways in mitral valve degeneration. *Journal of Veterinary Cardiology* 14: 7-17, 2012.
47. Oyama MA, Levy RJ. Insight into serotonin signaling mechanisms associated with canine degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24: 27-36, 2010.
48. Oyama MA. Neurohormonal activation in canine degenerative mitral valve disease: implications on pathophysiology and treatment. *Journal of Small Animal Practice* 50: 3-11, 2009.
49. Uechi M, Shimizu A, Mizuno M. Heart rate modulation by sympathetic nerves in dogs with heart failure. *The Journal of Veterinary Medical Science* 6: 1023-1029, 2002.
50. Santos MM, Strunz CM, Lasso MH. Correlation between activation of the sympathetic nervous system estimated by plasma concentration of epinephrine and Doppler echocardiographic variables in dogs with acquired heart disease. *The American Journal of Veterinary Research* 67: 1163-1168, 2006.
51. Crosara S, Borgarelli M, Perego M *et al.* Holter monitoring in 36 dogs with myxomatous mitral valve disease. *Australian Veterinary Journal* 88 (10): 386-392, 2010.
52. Kwart C, Haggstrom J, Pedersen HD, *et al.* Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous mitral valve disease and asymptomatic mitral regurgitation. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 16: 80-88, 2002.
53. Atkins CE, Keene BW, Brown WA *et al.* Results of the veterinary enalapril trial to prove reduction in onset of heart failure in dogs chronically treated with enalapril alone for compensated, naturally occurring mitral valve insufficiency. *Journal of American Veterinary Medical Association* 231: 1061-1069, 2007.
54. Fuji Y, Orito K, Muto M *et al.* Modulation of the tissue renin-angiotensin-aldosterone system in dogs with chronic mild regurgitation through the mitral valve. *The American Journal of Veterinary Research* 68: 1045-1050, 2007.
55. Borgarelli M, Crosara S, Lamb K *et al.* Survival characteristics and prognostic variables of dogs with preclinical chronic degenerative mitral valve disease attributable to myxomatous degeneration. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26: 69-75, 2012.
56. Borgarelli M, Savarino P, Crosara S *et al.* Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22: 120-128, 2008.
57. Uechi M, Mizukoshi T, Mizuno M *et al.* Mitral valve repair under cardiopulmonary bypass in small-breed dogs: 48 cases (2006-2009). *Journal of American Veterinary Medical Association* 240 (10): 1194-1201, 2012.
58. Eyster GE, Weber W, Chi S *et al.* Mitral valve prosthesis for correction of mitral regurgitation in a dog. *Journal of American Veterinary Medical Association* 168(12): 1115-1118, 1976.
59. Nishida M, Kagawa Y, Mizukoshi T *et al.* Post-mortem evaluation of expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) used in mitral valve repair in dogs. *Journal of Veterinary Cardiology* 14(1): 307-312, 2012.
60. Orton CE, Hackett TB, Mama K *et al.* Technique and outcome of mitral valve replacement in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association* 226 (9): 1508-1511, 2005.
61. De Andreade JN, Orton CE, Boon J *et al.* Partial external mitral annuloplasty in dogs with myxomatous mitral valve degeneration and congestive heart failure: outcome in 9 cases. *Journal of Veterinary Cardiology* 13(3): 197-201, 2011.
62. Mizuno T, Mizukoshi T, Uechi M. Long-term outcome in dogs undergoing mitral valve repair with suture annuloplasty and chordae tendinae replacement. *The Journal of Small Animal Practice* 54(2):104-107, 2013.
63. Griffiths LG, Orton CE, Boon JA. Evaluation of techniques and outcomes of mitral valve repair in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association* 224(12): 1941-1945, 2004.
64. La Canna G, Arendar I, Maisano F, *et al.* Real-time three-dimensional transesophageal echocardiography for assessment of mitral valve functional anatomy in patients with prolapse-related regurgitation. *The American Journal of Cardiology* 107:1365-1374, 2011.
65. Tsang W, Freed BH, Lang RM. The role of 3-dimensional echocardiography in the diagnosis and management of mitral valve disease: myxomatous valve disease. *Cardiology Clinics* 31:203-215, 2013.
66. Tsang W, Lang RM. Three-dimensional echocardiography is essential for intraoperative assessment of mitral regurgitation. *Circulation* 128:643-652, 2013.
67. Tidholm A, Bodegard-Westling A, Hoglund K, *et al.* Comparisons of 2- and 3-dimensional echocardiographic methods for estimation of left atrial size in dogs with and without myxomatous mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25:1320-1327, 2011.
68. Ljungvall I, Hoglund K, Carnabuci C, *et al.* Assessment of global and regional left ventricular volume and shape by real-time 3-dimensional echocardiography in dogs with myxomatous mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25:1036-1043, 2011.
69. Tidholm A, Hoglund K, Haggstrom J *et al.* Left atrial ejection fraction assessed by real-time 3-dimensional echocardiography in normal dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27(4): 884-889, 2013.
70. Mencioti G, Borgarelli M, Wesselowski E *et al.* Quantitative evaluation of canine mitral valve in dogs using Three-Dimensional echocardiography. 24th ECVIM-CA Annual Congress, Mainz, 4-6 Sept 2014.