

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

WILLIAN KAIDA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS CARDIOVASCULARES, HEMATOLÓGICOS,
BIOQUÍMICOS, DE ESTRESSE E METABOLISMO OXIDATIVO DE CÃES EM
DIFERENTES ESTÁGIOS DE DOENÇA DEGENERATIVA VALVAR MITRAL**

**LAGES
2022**

WILLIAN KAIDA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS CARDIOVASCULARES, HEMATOLÓGICOS,
BIOQUÍMICOS, DE ESTRESSE E METABOLISMO OXIDATIVO DE CÃES EM
DIFERENTES ESTÁGIOS DE DOENÇA DEGENERATIVA VALVAR MITRAL**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientadora: Mere Erika Saito

Coorientadora: Letícia Andreza Yonezawa

LAGES, SC
2022

Almeida, Willian Kaida de
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS CARDIOVASCULARES,
HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS, DE ESTRESSE E
METABOLISMO OXIDATIVO DE CÃES EM DIFERENTES
ESTÁGIOS DE DOENÇA DEGENERATIVA VALVAR MITRAL
/ Willian Kaida de Almeida. -- 2022.
62 p.

Orientadora: Mere Erika Saito
Coorientadora: Letícia Andreza Yonezawa
Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2022.

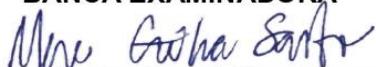
1. Endocardiose. 2. Ecocardiograma. 3.
Eletrocardiograma. 4. Cortisol. 5. Malondialdeído. I. Saito,
Mere Erika. II. Yonezawa, Letícia Andreza. III. Universidade
do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal. IV. Título.

WILLIAN KAIDA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS CARDIOVASCULARES, HEMATOLÓGICOS,
BIOQUÍMICOS, DE ESTRESSE E METABOLISMO OXIDATIVO DE CÃES EM
DIFERENTES ESTÁGIOS DE DOENÇA DEGENERATIVA VALVAR MITRAL**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Mere Erika Saito

Orientadora

Universidade do Estado de Santa Catarina – CAV/UDESC

Membros:



Prof. Dr. Andre Marcelo Conceição Meneses

Universidade Federal Rural da Amazônia – Belém/PA


Drª. Julieta Volpato
Patologia Clínica Veterinária
CRMV/SC#580

Profa. Dra. Julieta Volpato

Universidade do Estado de Santa Catarina – Lages/SC

Documento assinado digitalmente
gov.br Marcia Kikuyo Notomi
Data: 22/02/2022 09:50:31-0300
Verifique em <https://verificador.itd.br>

Profa. Dra. Márcia Kikuyo Notomi
Universidade Federal de Alagoas – Viçosa/AL



Prof. Dr. Paulo Henrique Braz
Instituto Federal Farroupilha – Frederico Westphalen/RS

Lages – SC, 16 de fevereiro de 2022

À minha mãe, ao meu amado
companheiro, aos meus amigos, à minha
orientadora e coorientadora, dedico este
trabalho. Obrigado por todo o apoio e amor
de vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha orientadora Mere Erika Saito pela oportunidade e me aceitar como orientado, sem sua confiança não teria chegado até aqui. Agradeço também à minha coorientadora Letícia Andreza Yonezawa por toda a ajuda, conselhos, conversas e principalmente pela amizade e confiança, que, com certeza, me tornaram um profissional melhor.

Ao meu amado companheiro Thierry Grima de Cristo por todo o amor, carinho, paciência e apoio em todos os momentos. Você e o Ares são minha família, meu porto seguro, me mostrando que sempre há luz em todos os caminhos, seu amor sempre me ajudou a seguir em frente.

Agradeço à minha família, em especial à minha mãe, que sempre será um exemplo de pessoa para mim. Agradeço também a todos os meus amigos de Campo Grande e Lages por todo o apoio, risadas e por sempre me incentivarem a seguir em frente.

Agradeço à Julieta Volpato e aos residentes, mestrandos e estagiários do Laboratório Clínico Veterinário-CAV/UDESC. Obrigado por toda a ajuda com o processamento amostras e pela paciência com tantas colheitas e exames.

Agradeço as residentes do setor de Clínica Médica de Pequenos Animais CAV-UDESC por toda ajuda em selecionar os animais para o projeto e por toda a ajuda prestada. Um agradecimento especial a residente Thais Alessandra dos Santos que com toda sua dedicação e amizade tornaram todos os momentos no hospital veterinário agradáveis.

Agradeço à equipe do setor de Diagnóstico por imagem – CAV/UDESC por terem cedidos os equipamentos e exames para algumas avaliações presentes nesta pesquisa.

À UDESC e o Hospital de Clínicas Veterinárias pela estrutura fornecida para a realização deste projeto. Agradeço também a todos os funcionários que de alguma maneira contribuíram para a realização ou organização desta pesquisa.

Agradeço aos tutores e aos animais que participaram do projeto, muito obrigado pela confiança durante a realização desta pesquisa.

“Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada.
Apenas dê o primeiro passo.”

(Martin Luther King)

RESUMO

A doença degenerativa valvar mitral (DVM) é a principal cardiopatia em cães que pode levar a quadro de insuficiência cardíaca, um complexo clínico que interfere não só diretamente no funcionamento cardíaco, como também apresenta repercussões sistêmicas. O malondialdeído (MDA) e o cortisol podem ter sua liberação estimulada como parte do processo de evolução da doença, como também podem causar ações deletérias ao sistema cardiovascular. Deste modo, esta pesquisa teve por objetivo avaliar o perfil laboratorial, por meio de hemograma, bioquímica sérica e urinálise, bem como determinar a concentração sérica de MDA e cortisol em cães com doença degenerativa valvar mitral em diferentes estágios para se determinar suas relações com as alterações cardiovasculares e laboratoriais. Foram avaliados 37 cães adultos, machos e fêmeas, divididos em 4 grupos de acordo com seu estágio de DVM: GA ($n=10$), GB1 ($n=10$), GB2 ($n=9$) e GC ($n=8$) conforme estabelecido pelo Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (ACVIM). Os valores obtidos nas avaliações de cada grupo foram analisados pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de análise de variância quando paramétricos, sendo comparados pelo teste de Tukey quando significativo, e quando não paramétricos foi realizado teste de Kruskal Wallis. Para a correlação de MDA e cortisol sérico com outros parâmetros foi utilizado teste de correlação de Pearson para dados paramétricos ou correlação de postos de Spearman para não paramétricos, sendo os resultados considerados significativos quando $p<0,05$. A DVM causou alterações cardíacas relacionadas ao remodelamento como aumento das câmaras esquerdas e arritmias. Alterações hematológicas, na bioquímica sérica e urinálise também ocorreram com o avanço da doença, entretanto não houve variação na concentração de MDA e cortisol sérico entre os estágios. O nível de MDA e o cortisol séricos não se correlacionou com a gravidade dos achados nos exames cardiovasculares e laboratoriais, respectivamente. Houve uma correlação positiva entre os achados ecocardiográficos indicativos de remodelamento cardíaco com os parâmetros eletrocardiográficos e radiográficos sugestivos de cardiomegalia. Em conclusão, o hemograma, bioquímica sérica, urinálise e eletrocardiograma devem ser solicitados como parte da abordagem clínica, tendo este último uma correlação com os achados ecocardiográficos, porém o cortisol e MDA séricos não sofrem influência da gravidade da DVM, não havendo relação das suas concentrações com achados ecocardiográficos ou hematimétricos.

Palavras-chave: Endocardiose; Ecocardiograma; Eletrocardiograma; Cortisol; Malondialdeído

ABSTRACT

Mitral valve disease (MVD) is the main heart disease in dogs that can lead to heart failure, a clinical complex that not only directly interferes with cardiac function, but also with systemic repercussions. Malondialdehyde (MDA) and cortisol can have their release stimulated as part of the disease evolution process, and they can also cause harmful actions to the cardiovascular system. Thus, this research aims to evaluate the laboratory profile, through blood count, serum biochemistry, and urinalysis, as well as to determine the concentrations of MDA and serum cortisol in dogs with mitral valve disease at different stages to determine their relationships with cardiovascular and laboratory changes. Thirty-seven adult dogs, male and female, were evaluated, divided into 4 groups according to their MVD stage: GA (n=10), GB1 (n=10), GB2 (n=9) and, GC (n=8) as established by the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM). The values obtained in the evaluations of each group were analyzed using the Kolmogorov-Smirnov normality test and analysis of variance when parametric, being compared by the Tukey test when significant, when non-parametric the Kruskal Wallis test was performed. For the correlation of MDA and serum cortisol with other parameters, Pearson's correlation was used for parametric data or Spearman's rank correlation for non-parametric data, with the results considered significant when $p<0.05$. MVD causes cardiac alterations related to remodelings, such as enlargement of the left chambers and arrhythmias. Hematological, serum biochemistry and urinalysis changes may also occur as the disease progresses, however there is no variation in serum MDA and cortisol concentrations between stages. MDA level and serum cortisol do not correlate with the severity of findings on routine cardiovascular examinations. There was a positive correlation between echocardiographic findings indicative of cardiac remodeling and electrocardiographic and radiographic parameters suggestive of cardiomegaly. In conclusion, blood count, serum biochemistry, urinalysis and electrocardiogram should be requested as part of the clinical approach, and the electrocardiogram correlates with echocardiographic findings, but serum cortisol and MDA are not influenced by the severity of VMD, with no relationship between their concentrations with echocardiographic or hematimetric findings.

Keywords: Endocardiosis; Echocardiogram; Electrocardiogram; Cortisol; Malondialdehyde

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Resultados de número de cães por raça de diferentes estágios de doença valvar mitral atendidos pelo HCV-CAV/UDESC no período do estudo.....	37
Tabela 2 -	Valores da média \pm desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros do hemograma em grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	38
Tabela 3 -	Valores da média \pm desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros da bioquímica sérica de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	39
Tabela 4 -	Valores da média \pm desvio padrão da concentração sérica de malondialdeído (MDA) e cortisol em grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	39
Tabela 5 -	Valores da média \pm desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros da urinálise em grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	40
Tabela 6 -	Valores da média \pm desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros eletrocardiográficos em grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	41
Tabela 7 -	Valores da média \pm desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros ecocardiográficos em modo M de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral ...	42
Tabela 8 -	Valores da média \pm desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros ecocardiográficos em modo Doppler pulsátil de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	43
Tabela 9 -	Valor da média \pm desvio padrão do <i>Vertebral Heart Size</i> (VHS) e <i>Vertebral Left Atrial Size</i> (VLAS) de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	43
Tabela 10 -	Valor da média \pm desvio padrão da pressão arterial sistêmica de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral ...	44

Tabela 11 -	Correlação da relação entre a relação do átrio esquerdo e aorta no exame ecocardiográfico com <i>Vertebral Left Atrial Size</i> (VLAS) e a duração da onda p em cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	44
Tabela 12 -	Correlação entre o Diâmetro Diastólico Normalizado pelo Peso (DDNP) com parâmetros radiográficos e eletrocardiográficos relacionados ao aumento de ventrículo esquerdo de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	45
Tabela 13 -	Correlação entre os valores de malondialdeído (MDA) com valores relacionados aos tamanhos de câmaras cardíacas nos exames ecocardiográficos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	45
Tabela 14 -	Correlação entre os valores séricos de cortisol com parâmetros hematimétricos de pressão arterial sistêmica (PAS) de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral	46

LISTA DE SIGLAS

ACVIM –	Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária
AE –	Átrio esquerdo
AE:Ao –	Relação entre átrio esquerdo e aorta
ALT –	Alanina aminotransferase
ANOVA –	Análise de variância
Ao –	Aorta
AP –	Artéria pulmonar
BAV –	Bloqueio atrioventricular
CAV –	Centro de Ciências Agroveterinárias
CEUA –	Comitê de Ética no Uso de Animais
CSVp –	Complexo supraventricular prematuro
DDNP –	Diâmetro diastólico normalizado pelo peso
DIVEd –	Diâmetro interno de ventrículo esquerdo em diástole
DIVEs –	Diâmetro interno de ventrículo esquerdo em sístole
DVM –	Doença degenerativa valvar mitral
ECG –	Eletrocardiograma
EDTA –	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA –	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ERO –	Espécie reativa de oxigênio
FA –	Fosfatase alcalina
FE –	Fração de ejeção
FS –	Fração de encurtamento
G –	Gauge
GGT –	Gama-glutamil transferase
Grad Ao –	Gradiente de fluxo aórtico
Grad Pul –	Gradiente de fluxo pulmonar
ICC –	Insuficiência cardíaca congestiva
kg –	Quilograma
MDA –	Malondialdeído
mg –	Miligramma
MINE –	Mitral insufficiency echocardiographic

mL –	Mililitro
mm –	Milímetro
mmHg	Milímetros de mercúrio
Modo-B –	Modo bidimensional
Modo-M –	Modo movimento
P:CU –	Relação entre proteína e creatinina urinária
PAS –	Pressão arterial sistêmica
PLVEd –	Parede livre de ventrículo esquerdo em diástole
PLVEs –	Parede livre de ventrículo esquerdo em sístole
PST –	Proteína sérica total
s –	Segundo
SIVd –	Septo interventricular em diástole
SIVs –	Septo interventricular em sístole
SRAA –	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
SRD –	Sem raça definida
SSPE –	Separação septal do ponto E
TGF-β –	Fator de crescimento transformador beta
UDESC –	Universidade do Estado de Santa Catarina
Vel Max Ao –	Velocidade máxima aórtica
Vel Max Pul –	Velocidade máxima pulmonar
VHS –	<i>Vertebral Heart Size</i>
VLAS –	<i>Vertebral Left Atrial Size</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	DOENÇA DEGENERATIVA VALVAR MITRAL	17
2.2	REPERCUSSÃO CARDÍACA DA DVM	18
2.3	ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E A DVM	20
2.4	REPERCUSSÃO SISTÊMICA DA DVM	21
2.5	ESTÁGIOS DA DVM	24
2.6	TRATAMENTO DA DVM	26
3	OBJETIVOS	29
3.1	OBJETIVOS GERAIS	29
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4	MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1	COMITÊ DE ÉTICA	30
4.2	LOCAL	30
4.3	ANIMAIS	30
4.4	COLHEITA DAS AMOSTRAS SANGUÍNEAS	31
4.4.1	Hemograma e proteína plasmática total	31
4.4.2	Bioquímica sérica	32
4.4.3	Determinação do malondialdeído	32
4.4.4	Determinação do cortisol	32
4.5	URINÁLISE	32
4.6	ELETROCARDIOGRAMA	33
4.7	ECOCARDIOGRAMA	33
4.8	RADIOGRAFIA TORÁCICA	34
4.9	PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA	35
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
5	RESULTADOS	37
6	DISCUSSÃO	47
7	CONCLUSÃO	53
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1. INTRODUÇÃO

As doenças valvares adquiridas são as cardiopatias mais comuns em cães, sendo a valva mitral a mais frequentemente acometida principalmente em cães idosos de raças pequenas (BORGARELLI; BUCHANAN, 2012; RUSH, 2002; TILLEY; GOODWIN, 2002). A evolução da doença degenerativa valvar mitral (DVM) crônica pode levar ao desenvolvimento da insuficiência cardíaca, causando alterações hemodinâmicas e neuro-hormonais (KEENE et al., 2019; VEZZOSI et al., 2021a).

As alterações hemodinâmicas estão relacionadas ao remodelamento cardíaco que ocorre devido à sobrecarga atrial e hipertrofia ventricular secundárias à doença valvar mitral (HÄGGSTRÖM; PEDERSEN; KVART, 2004; THASSAKORN et al., 2019; WARE, 2010). Com a progressão da doença valvar mitral, há dilatação e aumento da pressão da veia pulmonar e, consequentemente, insuficiência da valva tricúspide, fazendo com que o animal também possa desenvolver sinais de insuficiência cardíaca direita (REINERO et al., 2020; RUSH, 2002; TILLEY; GOODWIN, 2002).

O estiramento excessivo ou cíclico dos cardiomiócitos causados pelo remodelamento cardíaco podendo aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (AHMED et al., 2010; PIMENTEL et al., 2001). A presença de ERO pode estimular, direta ou indiretamente, fatores que estimulam a hipertrofia cardíaca (GIORDANO, 2005). Outro efeito cardíaco relacionado às ERO é a capacidade de estimular a apoptose dos miócitos cardíacos e consequentemente causar alterações na sua contratilidade (GIORDANO, 2005; PIMENTEL et al., 2001).

A ativação neuro-hormonal pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona e aumento do tônus simpático é a principal responsável pelo surgimento dos sinais clínicos de insuficiência cardíaca congestiva (TILLEY; GOODWIN, 2002; WARE, 2010). A angiotensina II possui ação vasoativas, causando vasoconstrição, sobre os rins, aumentando a retenção de sódio e água, além de uma ação no próprio miocárdio, estimulando também seu remodelamento (SANTOS; FAGUNDES-MOURA; SILVA, 2000; WARE, 2010). Da mesma forma, a angiotensina II tem como papel estimular a liberação de aldosterona e vasopressina, e esta por sua vez pode levar a liberação de cortisol que também tem efeitos no sistema cardiovascular como o aumento do tônus vascular (IOB; STEPTOE, 2019; MACFADYEN et al., 1999; TIDHOLM; HÄGGSTRÖM; HANSSON, 2005).

Apesar do estadiamento da DVM apresentar uma fácil replicação, podendo ser usada como rotina na clínica médica, os parâmetros laboratoriais e eletrocardiográficos ainda não foram incluídos como exames de rotina para pacientes com suspeita de DVM, uma vez que essa doença pode causar não só alterações cardíacas, como também sistêmicas. Dessa maneira, objetivou-se com este trabalho analisar os resultados das avaliações cardiovasculares, de hemograma, bioquímica sérica e urinálise, bem como a concentração de malondialdeído (MDA) e cortisol em cães com diferentes estágios de DVM para avaliar a presença de alterações e as relações destas com cada estágio da doença, além de correlacionar os valores de MDA e cortisol encontrados com os achados laboratoriais, radiográficas, eletro e ecocardiográficos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DOENÇA DEGENERATIVA VALVAR MITRAL

A valva mitral é uma estrutura formada por quatro componentes: os folhetos valvares, o anulo mitral, as cordas tendíneas e os músculos papilares (LIAO; VESELY, 2003; OYAMA et al., 2020). A valva mitral apresenta dois folhetos valvares, ou cúspides, sendo uma delas maior e mais espessa chamada de porção septal (anterior), e outra mais delgada e segmentada chamada de porção parietal (posterior) (LIAO; VESELY, 2003; RICHARDS et al., 2012). As cordas tendíneas ligam as extremidades de ambas as cúspides aos músculos papilares. Essas estruturas trabalham em conjunto para o fechamento e a abertura do óstio atrioventricular, permitindo dessa maneira a passagem unidirecional do sangue entre o átrio esquerdo e o ventrículo esquerdo (RICHARDS et al., 2012).

Na DVM há a incapacidade da valva mitral em manter a total coaptação de seus folhetos, fazendo com que haja regurgitação do fluxo sanguíneo para o átrio esquerdo durante a sístole ventricular (BOON, 2011; FOX, 2012). Essa alteração é mais prevalente em cães idosos, machos, de raças como Cavalier King Charles Spaniel, Poodle, Chihuahua, Pinscher, Yorkshire, Shih Tzu, Dachshund e Pequinês (BORGARELLI; BUCHANAN, 2012; KEENE et al., 2019; MATTIN et al., 2015; SERRES et al., 2007; SWIFT; BALDIN; CRIPPS, 2017; VEZZOSI et al., 2021a; WARE, 2010). Entretanto, outras raças de pequeno ou médio porte também podem desenvolver a doença inclusive os animais sem raça definida, e em raças puras, como o Cavalier King Charles, os primeiros sinais clínicos da doença podem ser evidentes quando ainda jovens, a partir dos quatro anos de idade (CHAMAS et al., 2011; LEWIS et al., 2011).

A causa da doença degenerativa valvar mitral em cães ainda não é clara, entretanto fatores genéticos, aumento na concentração da serotonina sérica e do fator de crescimento transformador beta (TGF- β) já foram associadas com o aparecimento desta doença em algumas raças (OLSEN; FREDHOLM; PEDERSEN, 1999; OYAMA et al., 2020). Durante o desenvolvimento da doença há uma alteração fenotípica das células intersticiais da valva mitral para desta maneira tentar manter o tônus valvar e sua funcionalidade mecânica (BLACK et al., 2005). Nos casos relacionados à

serotonina e ao TGF-β, essa alteração é ativada como resposta ao estímulo contínuo das células intersticiais valvulares a estes dois mediadores, causando aumento da fosforilação das vias mitogênicas e aumento na produção de matriz extracelular e metaloproteinases da matriz (OYAMA et al., 2020). Com isso há o desenvolvimento de uma deformação estrutural progressiva que provoca uma falha na coaptação dos folhetos, provocando a regurgitação (BOON, 2011; HÄGGSTRÖM; PEDERSEN; KVART, 2004).

No início do desenvolvimento da DVM as alterações nos folhetos se iniciam em suas bordas próximo às cordas tendíneas, onde eles se tornam estruturas mais opacas e grossas, e conforme há a progressão da doença os folhetos adquirem uma forma nodular e deformada, podendo inclusive ocorrer a ruptura da corda tendínea (FOX, 2012; SERRES et al., 2007). Pelos achados macroscópicos durante a necropsia pode se classificar as lesões na valva mitral em quatro graus, no qual o primeiro representa discretas nodulações e áreas de opacidade nos folhetos e o quarto grau representa a deformação e a presença de uma “forma de balão” dos folhetos (FOX, 2012; WHITNEY, 1974).

A regurgitação valvar mitral, de forma crônica, causa aumento do esforço cardíaco para tentar manter o débito, que consequentemente acarreta a hipertrofia e disfunção ventricular, que com o passar do tempo pode evoluir para quadros de insuficiência cardíaca (FOX, 2012; KEENE et al., 2019; MORGAN et al., 2020; VATNIKOV et al., 2020; VEZZOSI et al., 2021a). A insuficiência da valva mitral é considerada a principal causa de insuficiência cardíaca em cães (BORGARELLI et al., 2008).

2.2 REPERCUSSÃO CARDÍACA DA DVM

No início da doença a regurgitação da valva mitral durante a sístole ventricular não leva a alterações em relação às paredes cardíacas ou na função cardíaca, visto que o volume regurgitado é facilmente acomodado pelo átrio esquerdo (HÄGGSTRÖM; PEDERSEN; KVART, 2004). Entretanto, com o tempo a degeneração da valva tende a progredir e consequentemente o volume regurgitante também eleva, e desta maneira há o aumento da pressão interna atrial o que causa a dilatação desta câmara (BOON, 2011; TILLEY; GOODWIN, 2002; WARE, 2010). Como parte do volume ventricular é ejetado de volta para o átrio esquerdo devido à regurgitação, o

ventrículo aumenta a força de contração e a frequência cardíaca para desta maneira manter o débito cardíaco (HÄGGSTRÖM; PEDERSEN; KVART, 2004). Em casos graves de dilatação atrial secundária à DVM, áreas de fibrose podem surgir no miocárdio, que podem favorecer o surgimento de arritmias supraventriculares, como a fibrilação atrial (GUGLIELMINI et al., 2020; TOALDO et al., 2020).

Com a dilatação atrial há uma elevação do volume para o preenchimento ventricular, o que ocasiona uma sobrecarga ventricular levando à dilatação do ventrículo esquerdo e hipertrofia excêntrica do miocárdico por tentar manter o débito cardíaco (BOON, 2011; HÄGGSTRÖM; PEDERSEN; KVART, 2004; VATNIKOV et al., 2020). Com a dilatação do ventrículo há um aumento no volume final diastólico, representando um crescimento da pré-carga, o que leva a uma elevação da força de contração devido ao princípio de Frank-Starling (BOON, 2011; KOMAMURA et al., 1993). Com o avanço da DVM, o miocárdio começa a se tornar disfuncional o que pode causar um incremento do volume sistólico final em ventrículo esquerdo ou a diminuição da fração de encurtamento (RUSH, 2002).

A hipertrofia ventricular associada a elevação da frequência cardíaca eleva o requerimento de oxigênio pelo miocárdio, o que pode não ser suprido devido à diminuição do débito cardíaco pela DVM, levando a um quadro de isquemia (CHEN et al., 2009; GLADDEN et al., 2011). Em humanos com hipertrofia ventricular causada pela regurgitação mitral há uma correlação entre aumento do estresse oxidativo e a disfunção sistólica, ocorrendo inclusive a deposição de lipofuscinas, um material composto principalmente por proteínas modificadas por oxidação e resíduos da degradação de lipídios, que causa danos irreversíveis na função celular (GLADDEN et al., 2011).

Além da repercussão no ventrículo, a dilatação e o incremento da pressão atrial também afetam as veias pulmonares, fazendo com que haja um aumento da pressão e dilatação dessas, e o cão pode desenvolver edema pulmonar (REINERO et al., 2020; TILLEY; GOODWIN, 2002). A formação de edema pulmonar devido à DVM leva a um quadro de insuficiência cardíaca congestiva (ICC) esquerda, no qual o animal apresenta tosse, cansaço, dispneia, intolerância ao exercício e síncope como principais sinais clínicos (HAMLIN, 2005; KEENE et al., 2019; PEREIRA; CAMACHO; MORAIS, 2005; PERIN et al., 2007; WARE, 2010).

O edema pulmonar de forma crônica associado com o aumento da pressão nas veias pulmonares desencadeia a hipertensão pulmonar e aumento da pressão

sistólica sobre a artéria pulmonar (BOON, 2011; REINERO et al., 2020). A hipertensão pulmonar ocasiona a hipertrofia e sobrecarga ventricular direita, e o animal acaba desenvolvendo regurgitação de tricúspide e, de forma crônica, insuficiência cardíaca direita secundária (REINERO et al., 2020; RUSH, 2002; TILLEY; GOODWIN, 2002). Em humanos sabe-se que o grau de regurgitação da tricúspide não está relacionado ao grau de regurgitação da mitral, entretanto existe uma correlação entre a regurgitação da tricúspide com a dilatação do átrio esquerdo (ABELLO et al., 2013).

2.3 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E A DVM

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são moléculas consideradas tóxicas derivadas do metabolismo de oxigênio e nitrogênio (CAMPOS; LEME, 2018). Os agentes antioxidantes são os principais responsáveis pela total ou parcial neutralização das EROs, evitando desta maneira sua ligação com componentes celulares pelas reações de óxido-redução (CAMPOS; LEME, 2018; VELLOSA et al. 2021). Quando há uma elevação de EROs que ultrapasse a ação antioxidante, seja por diminuição dos agentes oxidantes ou aumento na produção de EROs, é estabelecido um quadro clínico de estresse oxidativo (CAMPOS; LEME, 2018; VELLOSA et al. 2021).

O estiramento dos miócitos atriais provocado pelo remodelamento cardíaco da DVM pode estimular um aumento na produção de EROs sem que haja o aumento das suas defesas antioxidantes, podendo assim levar a um quadro de estresse oxidativo nos cães (AHMED et al., 2010; CHEN et al., 2009; REIMANN et al., 2017). A presença de ERO pode estimular direta ou indiretamente a hipertrofia dos cardiomiócitos, como por exemplo, na mediação da via de oxidação de resíduos de cisteína ou por meio de alterações na expressão gênica mediada por fatores de transcrição (GIORDANO, 2005). As ERO também estão relacionadas à apoptose de cardiomiócitos, via mediação direta de genotoxicidade, e alteração no fluxo dos canais de cálcio (GIORDANO, 2005; PIMENTEL et al., 2001). As EROs também podem causar um evento nos cardiomiócitos chamado de peroxidação lipídica, causando danos a membrana celular e alterando o fluxo dos canais iônicos como, por exemplo, os canais de cálcio (GIORDANO, 2005; KOURIE, 1998).

O MDA é o produto final da peroxidação lipídica, sendo, portanto, um dos principais biomarcadores de dano oxidativo no soro e no plasma de cães e humanos

(CACHOFEIRO et al., 2008; FERRARI et al., 2004; REIMANN et al., 2017; VERK et al., 2017). Em humanos uma relação entre o aumento nos níveis séricos de MDA e o prognóstico desfavorável já foi estabelecida em pacientes com insuficiência cardíaca (ROMUK et al., 2019). Segundo Reimann *et al.* 2017, os níveis de MDA plasmático em cães não variam entre os estágios de DVM, entretanto, variáveis como o sexo, escore corporal e colesterol sérico possuem relação com MDA nestes cães. Contudo, a relação do MDA sérico com variáveis de remodelamento cardíaco ainda precisa ser estudada para um melhor entendimento do estresse oxidativo nas valvulopatias em cães.

2.4 REPERCUSSÃO SISTÊMICA DA DVM

Com o avanço da doença, o débito cardíaco não consegue ser mantido, diminuindo o volume de sangue que chega para os órgãos, ativando, desta maneira, outros mecanismos compensatórios, como sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), aumento do tônus simpático e atenuação do tônus vagal (KELLIHAN; STEPIEN, 2012; TILLEY; GOODWIN, 2002). A ativação desses mecanismos neuro-hormonais são os principais responsáveis pela apresentação clínica da ICC em cães (TILLEY; GOODWIN, 2002; WARE, 2010).

A redução da pressão da perfusão renal ativa sensores na região justaglomerular renal, que fazem a liberação de renina, que promove a conversão do angiotensinogênio em angiotensina I (PEDERSEN et al., 1995; SANTOS; FAGUNDES-MOURA; SILVA, 2000; SILVA; PINHEIRO; SANTOS, 2008). A angiotensina I é convertida pela enzima conversora de angiotensina em angiotensina II, responsável por ações vasculares e miocárdicas a fim de tentar regular a pressão sanguínea (RUSH, 2002; SANTOS; FAGUNDES-MOURA; SILVA, 2000). A angiotensina II promove a vasoconstrição sistêmica, e isto representa um aumento da pós-carga e do retorno venoso para o coração (pré-carga), o que pode ajudar as doenças que causam disfunção ventricular esquerda se desenvolver mais rapidamente (STEPIEN, 2009). Além disso, a angiotensina II age diretamente sobre o miocárdio provocando a hipertrofia miocárdica, aumento do inotropismo e da frequência cardíaca (SANTOS; FAGUNDES-MOURA; SILVA, 2000; WARE, 2010). Segundo Oyama *et al.* (2020), outro efeito da angiotensina II é o estímulo para a

secreção de TGF-β, que já foi relacionado como um fator para o desenvolvimento da DVM.

Além das alterações cardiovasculares, a angiotensina II estimula a liberação de aldosterona que são responsáveis pela reabsorção de sódio, cloro e água pelos rins, aumentando o apetite por sal e consumo de água para tentar aumentar o volume circulante, além de promover a excreção de potássio (MACFADYEN et al., 1999; SILVA; PINHEIRO; SANTOS, 2008; TILLEY; GOODWIN, 2002; WARE, 2010). O efeito antinatriurético da angiotensina II sobre os rins pode estar relacionado também ao aumento da ação simpática deste hormônio sobre os rins (SANTOS; FAGUNDES-MOURA; SILVA, 2000). Em humanos já foi relatado que a aldosterona pode ser formada localmente no coração pela ação da angiotensina II e pode provocar o aumento na síntese de colágeno tipo I e no acúmulo de proteínas que podem estar envolvidos no processo de hipertrofia cardíaca além de poder causar uma diminuição do tônus parassimpático (MACFADYEN et al., 1999; SANTOS; FAGUNDES-MOURA; SILVA, 2000).

Estimular a liberação do hormônio antidiurético, ou vasopressina, é outro papel exercido pela angiotensina II. Esse peptídeo é formado no hipotálamo e armazenado até sua secreção pela neuro-hipófise (SILVA; PINHEIRO; SANTOS, 2008). A vasopressina tem como principais efeitos o aumento da reabsorção de água, vasoconstrição e um efeito de retroalimentação positiva sobre o SRAA (SILVA; PINHEIRO; SANTOS, 2008; TILLEY; GOODWIN, 2002). Outra função fisiológica importante da vasopressina é o estímulo na produção do hormônio adrenocorticotrófico pela glândula pituitária, que por sua vez promove a liberação de glicocorticoides, como o cortisol, pela glândula adrenal (IOB; STEPTOE, 2019; WHITWORTH et al., 2005). A presença crônica de glicocorticoides na circulação pode interferir na função cardiovascular, uma vez que promovem a vasoconstrição (WHITWORTH et al., 2005). As concentrações de cortisol em cães são mais estudadas quando relacionadas às situações de estresse ou endocrinopatias, entretanto ainda pouco se sabe sobre sua correlação nas doenças cardíacas (TIDHOLM; HÄGGSTRÖM; HANSSON, 2005; YUKI et al., 2019).

O radioimunoensaio é considerado o padrão ouro para dosagens de cortisol no diagnóstico de endocrinopatias, entretanto ele possui componentes marcadores radioativos, reagentes com meia-vida curta e um processo laborioso para o descarte dos materiais utilizado, o que pode dificultar a realização dessa avaliação (LANE et

al., 2018; RUSSELL et al., 2007). Já avaliação dos níveis de cortisol salivar possui uma facilidade na colheita do material, entretanto há uma demora na variação de seus níveis quando comparado com o sangue e a concentração salivar chega a ser de 90 a 95% menor que a do sangue, dificultando a detecção de valores baixos (VINCENT; MICHELL, 1992). As avaliações séricas do cortisol pela técnica de ELISA possuem uma boa correlação com a técnica de radioimunoensaio, mas não são indicados para avaliação diagnóstica de casos de hiperadrenocorticismo, pois o radioimunoensaio possui uma sensibilidade maior para determinar a presença da doença nos animais sintomáticos (LANE et al., 2018). A avaliação do cortisol sérico utilizando a técnica de ELISA na DVM ainda é pouca explorada e estudos devem ser realizados para um melhor entendimento da relação entre o cortisol e esta doença.

O baixo débito cardíaco devido ao quadro de insuficiência cardíaca também interfere diretamente no funcionamento de outros sistemas, como o renal. O baixo débito cardíaco diminui o aporte sanguíneo para os rins, reduzindo a perfusão renal e a taxa de filtração glomerular (FREITAS et al., 2016). A interação entre o rim e o coração já é bem conhecida e estudada na medicina humana, podendo o rim ou o coração iniciar ou perpetuar disfunções do outro órgão (ZATZ, 2002), sendo a insuficiência renal aguda uma das primeiras alterações presentes nos pacientes cardiopatas, o que pode evoluir para doença renal crônica, sendo considerada uma das principais complicações fatais da doença cardíaca (RONCO et al., 2008). Ronco *et al.* (2008) denominaram essa complexa relação de lesão mútua como síndrome cardiorrenal.

As alterações renais secundárias à doença cardíaca podem diminuir a produção de eritropoietina, fazendo com que o animal, de forma crônica, se torne anêmico (ZATZ, 2002). Entretanto, em um estudo realizado em cobaias com ICC, notou-se que estes animais apresentavam anemia sem presença de alterações renais, e neste mesmo estudo foi encontrada uma diminuição na atividade hematopoietica nos animais com ICC, possivelmente relacionada com a produção de citocinas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (IVERSEN et al., 2002). Em humanos, a prevalência de anemia em cardiopatas pode chegar até 50% dos casos e a diminuição da concentração de hemoglobina está relacionada a uma maior gravidade da doença e mortalidade (ANAND et al., 2004; COHN; TOGNONI, 2001).

A resposta inflamatória também pode estar presente ao longo do desenvolvimento da DVM, sendo inclusive relatado aumento na expressão de

citocinas miocárdicas nos átrios e ventrículos em cães com ICC (FONFARA et al., 2013). A presença de resposta inflamatória também já foi relatada principalmente nos estágios da doença em que há o surgimento da ICC, havendo aumento nas concentrações da proteína C-reativa, linfócitos totais, neutrófilos e monócitos (DRUZHAEVA et al., 2021; FONFARA et al., 2013; PETRIČ et al., 2018).

A neutrofilia, monocitose e linfopenia já foram relacionadas como uma resposta fisiológica à liberação de cortisol, sendo que em humanos, a leucopenia também está relacionada à gravidade e à mortalidade nos casos de insuficiência cardíaca aguda, entretanto em cães essa relação não foi estabelecida (BEERDA et al., 2000; DRUZHAEVA et al., 2021; HAMILTON-ELLIOTT et al., 2018; RUDIGER et al., 2006; TIDHOLM; HÄGGSTRÖM; HANSSON, 2005).

2.5 ESTÁGIOS DA DVM

De acordo com Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (ACVIM), a DVM em cães pode ser classificada em quatro estágios de acordo com seu desenvolvimento: estágios A, B, C e D (KEENE et al., 2019). O estágio A inclui os animais de raças predispostas a desenvolver a DVM, porém, não apresentam nenhuma alteração clínica relacionada à doença. Os animais neste estágio devem passar por avaliações clínicas e cardíacas ainda jovens e manter uma rotina de avaliação anual para a detecção precoce dos sinais clínicos (KEENE et al., 2019; LEWIS et al., 2011).

Os animais incluídos no estágio B são cães que, independentemente da raça, apresentam alterações na valva mitral, causando a presença de sopro em foco mitral durante a ausculta cardíaca, mas não apresentam sinais clínicos de doença cardíaca (KEENE et al., 2019). Estes animais assintomáticos incluídos no estágio B, podem não apresentar ou terem discretos sinais de remodelamento cardíaco nos exames radiográficos e ecocardiográficos, sendo subclassificados no estágio B1, sendo comum esses animais serem diagnosticados durante exames de rotina (KEENE et al., 2019; STROHM et al., 2018). Já na subclassificação B2, os cães assintomáticos apresentam sinais de remodelamento devido à grave regurgitação na valva mitral, sendo estes sinais: sopro cardíaco de grau III a VI no exame físico, relação entre átrio esquerdo e aorta em início de diástole maior que 1,6, diâmetro diastólico interno de ventrículo esquerdo normalizado pelo peso maior que 1,7 no exame ecocardiográfico,

e escala vertebral do coração maior que 10,5 no exame radiográfico (BOSWOOD et al., 2018; BUCHANAN; BÜCHELER, 1995; KEENE et al., 2019; LAMB et al., 2001; VEZZOSI et al., 2021a).

Quando o animal com DVM apresenta alterações clínicas de ICC, independentemente da gravidade, ele se enquadra como estágio C (KEENE et al., 2019). Os sinais clínicos indicativos de ICC em cães com DVM incluem taquipneia, cansaço, dispneia ou tosse, podendo estes sinais ocorrerem de maneira aguda ou crônica, sendo o tratamento iniciado imediatamente (TILLEY; GOODWIN, 2002). Mesmo com a melhora clínica do paciente após o início do tratamento e permanecer assintomático, ele ainda é considerado um animal em estágio C da doença (KEENE et al., 2019).

O estágio D representa o estágio final da DVM, em que os cães se tornam refratários às medicações usadas no tratamento recomendado para ICC (KEENE et al., 2019). Nesses casos o uso de terapias com doses mais elevadas ou associações entre medicações não utilizadas na terapia padrão pode ser incluídas ao tratamento, ou em último caso o tratamento cirúrgico pode ser recomendado, entretanto está associado com alto grau de mortalidade pré-operatória ou volta da regurgitação e dos sinais clínicos a longo prazo (KEENE et al., 2019; MIZUNO; MIZUKOSHI; UECHI, 2013).

Atualmente, o uso do eletrocardiograma não faz parte do diagnóstico ou estadiamento para a DVM, apesar de arritmias poderem ocorrer durante o desenvolvimento da doença (KEENE et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2014). Além das informações relacionadas ao ritmo cardíaco, o eletrocardiograma também pode revelar alterações sugestivas de aumento de átrios e ventrículos, contudo o ecocardiograma ainda é considerado o exame mais preciso para a determinação do tamanho das câmaras cardíacas (MORGAN et al., 2020; TILLEY, 1995; VEZZOSI et al., 2021a).

Uma outra escala proposta para a classificação da DVM em cães é a chamada escala *Mitral INsufficiency Echocardiographic* (MINE), podendo ser usado como complemento ao estadiamento proposto do ACVIM, que utiliza apenas dados ecocardiográficos para caracterizar a gravidade da doença e o prognóstico dos pacientes (VEZZOSI et al., 2021a). Nessa escala são pontuados parâmetros relacionados ao remodelamento cardíaco e funções sistólica e diastólica: relação entre átrio esquerdo e aorta em início de diástole, diâmetro diastólico interno de

ventrículo esquerdo normalizado pelo peso, a fração de encurtamento e velocidade máxima da onda E transmitral (BOON, 2011; VEZZOSI et al., 2021a). Em seguida é feita a soma dos pontos em cada parâmetro e desta maneira é determinada a gravidade da doença para este animal.

A escolha dos parâmetros utilizados pelo estadiamento do ACVIM e da escala MINE é devido a esses fatores serem utilizados na rotina clínica durante a suspeita de DVM em cães e sua boa repetibilidade intra e interoperadores no exame ecocardiográfico (CHETBOUL et al., 2005; KEENE et al., 2019; VEZZOSI et al., 2021a).

2.6 TRATAMENTO DA DVM

O tratamento da DVM pode variar de acordo com o estágio e gravidade da doença, e se os sinais clínicos são agudos (KEENE et al., 2019). No primeiro estágio, quando ainda não há sinais clínicos ou surgimento de remodelamento cardíaco, não é recomendado nenhum tipo de tratamento ou alteração na alimentação para prevenção da DVM, porém nestas raças predispostas, como o Cavalier King Charles, recomenda-se que os animais que apresentem sopro mitral antes dos seis anos de idade não sejam utilizados para a procriação (KEENE et al., 2019; SWIFT; BALDIN; CRIPPS, 2017).

No estágio B1, como o animal ainda não apresenta sinais clínicos e os sinais de remodelamento ainda são considerados discretos, não há evidências de que algum tipo de tratamento possa evitar a progressão da doença, entretanto é recomendado que se faça a reavaliação ecocardiográfica e radiográfica do animal a cada seis ou doze meses (KEENE et al., 2019). Diferentemente, no estágio B2, mesmo o animal não apresentando sinais clínicos de ICC, há evidências de que o tratamento preventivo com pimobendan na dose de 0,25-0,3 mg/kg por via oral a cada 12 horas pode retardar o surgimento de sinais de ICC esquerda em 466 dias quando comparado com animais tratados com placebo, além de aumentar o tempo de sobrevida destes cães (BOSWOOD et al., 2016, 2018). A alteração da dieta para esses animais também deve ser recomendada, utilizando como principais pontos a diminuição moderada na quantidade de sódio e aumento na quantidade de proteína, calorias e arginina (FREEMAN; RUSH; MARKWELL, 2006).

O tratamento dos cães em estágio C difere em relação ao momento, sendo eles: o tratamento hospitalar durante a fase aguda dos sinais clínicos e o tratamento domiciliar durante a fase crônica (KEENE et al., 2019). Na fase aguda, a gravidade dos sinais clínicos pode variar entre os animais, mas o foco principal do tratamento em todos os casos deve ser a regulação da função hemodinâmica e a manutenção da oxigenação do organismo (WARE, 2010). O uso de furosemida, por infusão contínua ou aplicações a cada hora até a melhora da dispneia, ainda é considerado o melhor diurético para os casos de ICC agudo por DVM (KEENE et al., 2019; TILLEY; GOODWIN, 2002). A escolha desta medicação se deve ao seu potente efeito como diurético de alça e possuir uma rápida ação em reduzir a pressão hidrostática intravascular, reduzindo a formação de edema e melhorando desta maneira o quadro clínico do paciente em ICC (PEDDLE et al., 2012).

A suplementação com oxigênio e a drenagem de efusões podem ser utilizadas como parte do tratamento, caso haja necessidade, promovendo dessa maneira um maior conforto respiratório no paciente (TILLEY; GOODWIN, 2002). O uso de pimobendan neste estágio da doença é recomendado, mesmo que as evidências apontem um melhor resultado quando utilizado na fase crônica, devido à sua ação rápida sobre a função hemodinâmica pelo seu efeito vasodilatador e melhora na contratilidade cardíaca, aumentado assim o débito cardíaco, além de diminuir a pressão interna no átrio esquerdo, reduzindo dessa maneira o estresse sobre essa câmara (BOSWOOD et al., 2016; KEENE et al., 2019; SUZUKI et al., 2011).

Após a estabilização do paciente em ICC aguda, o tratamento domiciliar deve ser iniciado. A furosemida pode ser utilizada na dose de 2 mg/kg a cada 12 horas ou pode se trocar este diurético pela torasemida, outro diurético de alça de longa ação, na dose de 0,1-0,3 mg/kg a cada 24 horas, entretanto, em ambos os casos é recomendada a mensuração de ureia e creatinina sérica antes e 14 dias após o início do tratamento (CHETBOUL et al., 2017; KEENE et al., 2019; PEDDLE et al., 2012). O uso de espironolactona associado à furosemida ou torasemida pode ser recomendado, pois além de sua função diurética poupadora de potássio, também possui uma ação antagonista da aldosterona (BERNAY et al., 2010; KEENE et al., 2019).

Associado aos diuréticos no tratamento dos animais em estágio C crônico, deve se utilizar algum inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA), como enalapril ou benazepril, ajudando assim na manutenção da função hemodinâmica, prevenindo

dessa maneira a formação de angiotensina II (KEENE et al., 2019; TILLEY; GOODWIN, 2002). O uso de pimobendan deve ser continuado mesmo com a estabilização do paciente (BOSWOOD et al., 2016, 2018; SUZUKI et al., 2011). Uso de outras medicações, como antiarrítmicos ou antitussígenos podem ser associados ao tratamento, caso sejam necessárias e a critério do clínico veterinário (WARE, 2010).

Quando o animal se torna refratário à dose de furosemida de 8 mg/kg a cada 12 horas ou de torasemida de 0,8 mg/kg a cada 24 horas, e as alterações hemodinâmicas persistem mesmo com o uso de IECA e pimobendan nas doses padrões, este cão é classificado como estágio D da DVM (KEENE et al., 2019). Nestes casos não há estudos amplos em relação ao tratamento ideal. Dentro as possibilidades KEENE et al. (2019) recomendam aumentar a frequência da furosemida, utilizando uma aplicação a cada 6 horas, e do pimobendan a cada 8 horas, ou em último caso pode se aumentar a dose do pimobendan até o efeito desejado e associar a outros vasodilatadores para auxiliar a diminuição da pré- e pós-carga.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Objetivou-se realizar avaliação de hemograma, bioquímica sérica, urinálise, concentração de cortisol e MDA, além da avaliação cardíaca em cães com diferentes estágios da DVM para avaliar suas relações com os estágios da doença.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Avaliar os valores dos parâmetros de hemograma, bioquímica sérica e urinálise nos diferentes estágios da DVM.
- b. Avaliar o comportamento do MDA sérico no avanço da DVM.
- c. Avaliar o comportamento do cortisol sérico nos diferentes estágios de DVM.
- d. Determinar as principais alterações eletrocardiográficas nos diferentes estágios da DVM.
- e. Verificar a correlação entre os parâmetros ecocardiográficos utilizados para determinar aumento de câmaras cardíacas com os achados eletrocardiográficos e radiográficos relacionados.
- f. Verificar se há relação entre a dilatação das câmaras cardíacas com o nível de MDA sérico em cães em diferentes estágios de DVM.
- g. Avaliar se há correlação nos níveis de cortisol com variáveis do leucograma de cães em diferentes estágios de DVM.
- h. Avaliar a correlação entre o nível de cortisol com pressão arterial relacionada ao seu efeito vasoconstritor nos diferentes estágios da DVM.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COMITÊ DE ÉTICA

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) sob o número de protocolo 4972220119. Para todos os animais que participaram da pesquisa, foi solicitado aos proprietários que assinassem um termo de autorização e consentimento.

4.2 LOCAL

O estudo foi realizado nas dependências do Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV), do Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, UDESC, em Lages/SC e contou com a colaboração dos Serviços de Clínica Médica de Pequenos Animais, Cardiologia Veterinária, Laboratório Clínico Veterinário e Diagnóstico por Imagem.

4.3 ANIMAIS

Foram utilizados 37 cães alocados em quatro grupos, de acordo com a classificação do ACVIM para cães com doença valvar mitral crônica (KEENE et al., 2019): Grupo A (GA) composto por cães com alto risco de desenvolver a doença, mas que ainda não apresentavam alterações estruturais cardíacas; Grupo B1 (GB1) com cães com alterações estruturais cardíacas (presença sopro na auscultação cardíaca), mas que não apresentem sinais de remodelamento pelo ecocardiograma; Grupo B2 (GB2) com cães que apresentassem alterações estruturais cardíacas (sopro na auscultação cardíaca de grau III ou maior) e sinais de remodelamento em ecocardiograma; e Grupo C (GC) com cães que apresentassem sinais de insuficiência cardíaca congestiva decorrente a alterações estruturais cardíacas com presença de edema pulmonar agudo ou de forma estabilizada com medicações indicadas para o tratamento de acordo com o ACVIM.

Para o GA, foram considerados como critérios para inclusão: serem adultos (com idade maior que quatro anos) e de raças com alto risco de desenvolver a doença: Cavalier King Charles Spaniel, Poodle, Chihuahua, Pinscher, Yorkshire, Shih Tzu, Dachshund e Pequinês (BORGARELLI; BUCHANAN, 2012; KEENE et al., 2019; MATTIN et al., 2015; SERRES et al., 2007). Para os GB1, GB2 e GC foram

selecionados cães que se enquadrem na classificação específica (KEENE et al., 2019). Todos animais foram selecionados por meio de anamnese e exame físico geral (FEITOSA, 2008), bem como por avaliação de hemograma, de bioquímica sérica, urinálise, eletrocardiograma, ecocardiograma, radiografia torácica e de pressão arterial para confirmação da higidez para o GA, e para descartar a presença de outras doenças sistêmicas nos grupos GB1, GB2 e GC.

Para o GC foram admitidos cães com presença de edema pulmonar agudo ou histórico deste quadro clínico estabilizado. Foi considerado como um quadro clínico de edema pulmonar estabilizado os animais que não apresentavam mais o quadro de edema seguindo com o tratamento estabelecido pelo consenso ACVIM na data da avaliação.

Animais que apresentaram alterações ou doenças concomitantes não relacionadas à doença degenerativa valvar mitral ou insuficiência cardíaca congestiva foram excluídos da pesquisa.

4.4 COLHEITA DAS AMOSTRAS SANGUÍNEAS

Foram realizadas colheitas do sangue venoso por punção da veia jugular, utilizando-se agulhas de calibre 22G acopladas a seringas de 10 mL. As amostras foram acondicionadas em tubos contendo ativador de coágulo para obtenção do soro e em tubos contendo EDTA para obtenção do sangue total. Após a centrifugação, entre 1 a 2 mL do soro de cada uma das amostras foram congeladas para dosagem posterior de MDA e cortisol séricos. As colheitas de sangue foram realizadas nos períodos matutino e vespertino, respeitando os horários de funcionamento do HCV.

4.4.1 Hemograma e proteína plasmática total

O hemograma foi processado segundo Jain (1993). O hematócrito foi avaliado pelo método de microhematócrito em centrífuga (MicroSpin, Jaboticabal-SP). Para a contagem total de eritrócitos e leucócitos foi utilizado contador automático de células (SDH-3 Vet, Labtest, Lagoa Santa-MG). A contagem diferencial de leucócitos e estimativa de plaquetas foram realizadas em extensão sanguínea corada com corante hematológico rápido (NewProv, Pinhais-PR). A determinação da proteína plasmática total foi realizada por refratometria. Os resultados obtidos foram comparados com os

valores de referência utilizados pelo Laboratório Clínico Veterinário - CAV/UDESC (JAIN, 1993).

4.4.2 Bioquímica sérica

Para as análises bioquímicas foi utilizado o método de espectrofotometria em analisador automático de bioquímica úmida (Labmax Plenno, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa - MG). Para a avaliação da função renal na bioquímica sérica foi mensurada as concentrações de ureia (UV Enzimático: Urease-GLDH) e creatinina (colorimétrico – picrato alcalino – Jaffé). Para avaliação da função hepática, mensurou-se a concentração de proteína sérica total (PST) (colorimétrico – biureto), albumina (colorimétrico – verde de bromocresol) e globulina (diferença entre os valores de PST e albumina). Para a avaliação de lesão hepática foi mensurada a atividade da alanina aminotransferase (ALT) (cinético UV-IFCC), fosfatase alcalina (FA) (colorimétrico Browers e Mc Comb modificado) e gama-glutamiltransferase (GGT) (Szaz modificado). Os valores encontrados foram comparados com os valores descritos por Kaneko, Harvey e Bruss (2008).

4.4.3 Determinação do malondialdeído

A dosagem de malondialdeído (MDA) sérico foi realizada por espectrofotometria, conforme a técnica descrita por Esterbauer e Cheeseman (1990). A absorbância das amostras foi medida por analisador químico semiautomático (Mindray BA-88A, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics, Nanshan, China).

4.4.4 Determinação do cortisol

A concentração de cortisol sérico foi determinada pela técnica de ELISA em microplaca por meio de kit comercial (AccuBind ELISA Microwells Cortisol Test System, Monobind Inc, Lake Forest, EUA), seguindo a metodologia informada pelo fabricante. A leitura das microplacas foi realizada por leitora de absorbância para ELISA (Elx808, Biotek Instruments/Agilent, Santa Clara, EUA).

4.5 URINÁLISE

A urina foi colhida por meio de cateterismo vesical ou cistocentese guiada por ultrassom. Para o cateterismo foi utilizado sonda uretral nº4 lubrificada com gel e acoplado a uma seringa de 10 mL. Para a cistocentese foi utilizada uma seringa de 10 mL e uma agulha 22 G. A avaliação da urina foi realizada por análise física da amostra (volume, cor, odor, aspecto e densidade), química por meio da tira reagente (proteína, bilirrubina, urobilinogênio, glicose, cetona, sangue oculto e pH) e exame do sedimento urinário após centrifugação de 5 mL de amostra (células de descamação, eritrócitos, leucócitos, cilindros, bactérias, muco, cristais, entre outros eventuais achados).

Foi realizada a avaliação bioquímica por meio da mensuração da proteína urinária (colorimétrico – Vermelho de piragalol) e a creatinina urinária (Colorimétrico – Picrato alcalino – Jaffé), bem como a relação entre esses dois componentes (P:CU).

4.6 ELETROCARDIOGRAFIA

Os registros de eletrocardiograma (ECG) foram realizados com os animais em repouso, por meio de eletrocardiógrafo digital (TEB ECG-PC, TEB, São Paulo - SP) com o animal mantido em decúbito lateral direito sobre uma mesa com proteção embrorrachada para evitar interferências no traçado. Os eletrodos tipo “jacaré” foram fixados com algodão umedecido em álcool, segundo o plano frontal (derivação de membros). O tempo de gravação do traçado foi de pelo menos cinco minutos.

Os traçados nas derivações bipolares (DI, DII e DIII), unipolares (aVR, aVL, aVF) e pré-cordiais (CV₅RL, CV₆LL, CV₆LU e V₁₀) foram obtidos na sensibilidade de 1 mV/mm (N) e velocidade de 25 mm/s para determinação de ritmo, frequência cardíaca, eixo elétrico e na velocidade 50 mm/s para a determinação de amplitude e duração das ondas e intervalos, bem como para avaliação de infra ou supradesnívelamento de ST. Os valores obtidos nos registros foram comparados com os descritos na literatura para cães (TILLEY, 1995).

4.7 ECOCARDIOGRAFIA

O exame ecocardiográfico foi realizado utilizando o aparelho Ultramedic Infinit 9V (Ultramedic, Porto Alegre, RS).

Para realização do exame os animais não foram sedados, sendo posicionados em decúbito lateral direito e posteriormente em decúbito esquerdo, de acordo com o

plano a ser visibilizado, em colchão para exame ecocardiográfico e contenção manual. Em seguida foi realizada a tricotomia bilateral do bordo esternal até a articulação costocondral e aplicado gel condutor na região para uma melhor visibilidade.

Foram utilizados transdutores multifrequenciais para realização dos exames. Na janela paraesternal direita (terceiro ao quinto espaço intercostal) foram obtidas as imagens de quatro câmaras e de saída de ventrículo esquerdo pelo eixo longitudinal e imagens de base cardíaca, mitral e papilar pelo eixo transversal. Já na janela paraesternal esquerda, foram obtidas imagens do eixo longitudinal dos cortes apicais de quatro e cinco câmaras (BOON, 2005, 2011).

Para a avaliação foram utilizados o modo bidimensional (modo-B), o modo movimento (modo-M) e o modo Doppler pulsátil e fluxo de cores. Pelo modo-B foi feita a avaliação qualitativa, fornecendo informações quanto ao movimento, anatomia cardíaca e relação espacial. Pelo modo-M foi realizada a avaliação quantitativa referente ao diâmetro da aorta (Ao), do átrio esquerdo (AE), relação do tamanho entre AE e Ao (AE:Ao), diâmetro da artéria pulmonar (AP) na altura da valva pulmonar, o diâmetro interno do ventrículo esquerdo, septo interventricular e parede livre de ventrículo esquerdo, tanto em sístole (DIVEs, SIVs e PLVEs) quanto em diástole (DIVEd, SIVd e PLVEd), podendo assim determinar a fração de encurtamento (FS), fração de ejeção (FE) pelo método de Teicholz e diâmetro diastólico normalizado pelo peso (DDNP), além da aferição da separação septal do ponto E da mitral (SSPE). Para todas estas avaliações, foram utilizados como valores de normalidade os descritos por Boon (2005).

Pela ecocardiografia Doppler foi possível identificar os fluxos sanguíneos no coração e grandes vasos. A técnica foi utilizada na janela paraesternal esquerda no corte apical de quatro e cinco câmaras para avaliar presença de jato regurgitante em mitral, tricúspide, pulmonar e aórtico, bem como a avaliação da velocidade máxima aórtica (Vel Max Ao) e pulmonar (Vel Max Pul), gradiente de fluxo aórtico (Grad Ao) e pulmonar (Grad Pul), onda E e onda A mitral e de tricúspide. Os valores obtidos no modo Doppler foram comparados com os valores descritos na literatura para cães (BOON, 2011).

4.8 RADIOGRAFIA TORÁCICA

Todas as imagens foram obtidas por sistema digital (Lotus DR, Colombo - PR). O exame radiográfico foi realizado nas posições laterolateral e ventrodorsal, com contenção manual e sem uso de sedação. A posição ventrodorsal teve a finalidade de identificar um possível aumento atrioventricular esquerdo e a posição laterolateral de obter informações quanto à presença de deslocamento de brônquio principal esquerdo e brônquio do lobo acessório. A análise da silhueta cardíaca foi realizada pelo método de mensuração *Vertebral Heart Size* (VHS) descrito por BUCHANAN e BÜCHELER (1995) e pela mensuração do *Vertebral Left Atrial Size* (VLAS), por meio da técnica descrita por Malcolm *et al.* (2018).

O padrão pulmonar também foi avaliado, descrevendo achados sugestivos de alterações senis e de acúmulo de líquidos (padrão vascular, padrão intersticial e padrão alveolar) indicativos de edema pulmonar, avaliando também o espaço pleural quanto ao acúmulo de líquidos indicativos de efusão pleural, ambos sinais de ICC.

4.9 PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA

A pressão arterial sistêmica (PAS) foi mensurada por método não invasivo Doppler, utilizando o aparelho Parks modelo 812 (Parks Medical Electronics, Las Vegas – NV). Em ambiente fechado e tranquilo, os cães foram colocados em decúbito lateral direito sobre uma mesa, o manguito posicionado proximalmente à região radiocárpica e o transdutor sobreposto à região palmar, próximo à região carpometacárpica, objetivando-se captar o pulso das artérias digitais palmares comuns. A largura do manguito correspondia a 40% da circunferência do membro e comprimento a 1,5 vezes o tamanho da circunferência do membro.

Foram obtidas cinco aferições consecutivas da pressão arterial sistólica por animal, sendo o primeiro valor obtido descartado, e em seguida foi feita a média aritmética dos outros quatro valores restantes para assim determinar o valor final (BROWN *et al.*, 2007). Os valores finais obtidos foram comparados com os descritos por Brown *et al.* (2007) para este método de avaliação.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises foram processadas com o auxílio do programa estatístico computadorizado. De acordo com a distribuição normal dos dados, analisados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, as variáveis foram avaliadas segundo métodos

estatísticos paramétricos, sendo inicialmente avaliados por meio do teste de análise de variância (ANOVA) de uma via para medidas repetidas e, quando significativo, as médias foram confrontadas pelo teste de comparação múltipla de médias de Tukey. Quando não paramétricos, os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. Para a análise de correlação foi utilização teste de Pearson quando paramétrico ou correlação de Spearman quando não paramétrico, com os resultados obtidos pelas avaliações cardiovasculares e laboratoriais. Todas as análises foram consideradas significativas quando $p<0,05$.

5. RESULTADOS

Dos 37 cães aceitos para participar, 10 foram alocados no GA, 10 do grupo GB1, nove do GB2 e oito no GC. Com relação ao sexo, 23 animais eram fêmeas (62,16%) e 14 machos (37,84%), a idade média dos animais foi 10,6 anos ($\pm 3,5$) e peso médio de 6,04 kg ($\pm 3,13$). Outros seis animais chegaram a ser selecionados para a pesquisa, entretanto foram excluídos, sendo um deles por apresentar hemoparasitose concomitante, um por *Diabetes mellitus*, um por suspeita de hiperadrenocorticismo, um por neoplasia pulmonar e dois por irem a óbito antes do final das avaliações. As raças dos animais participantes em cada um dos grupos estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados de número de cães por raça de diferentes estágios de doença valvar mitral atendidos pelo HCV-CAV/UDESC no período do estudo.

Raças	GA	GB1	GB2	GC	Total
Poodle	4	2	3	1	10
SRD	0	3	4	2	9
Dachshund	1	1	0	2	4
Shih-Tzu	3	0	1	0	4
Yorkshire	1	1	0	1	3
Lhasa Apso	1	1	0	0	2
Pinscher	0	1	0	1	2
Schnauzer	0	0	1	1	2
Chihuahua	0	1	0	0	1
Total	10	10	9	8	37

SRD: Sem raça definida. Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

Com relação a condição corporal avaliada de acordo com o descrito por Feitosa (2018), todos os cães (100%) do GA apresentavam uma condição normal. Dos nove animais do GB1, seis (60,0%) tinham uma condição corporal normal, três (30,0%) eram magros e apenas um (10,0%) apresentava sobrepeso. No GB2, sete eram normais (77,77%) e dois eram magros (22,23%). Dos oito animais do GC, cinco (62,5%) cães eram tinham condição corpórea normal, dois eram magros (25,0%) e um apresentava sobrepeso (12,5%). Na avaliação de grau de desidratação, todos os cães de todos os grupos se apresentavam hidratados.

Em relação à apresentação clínica dos cães sintomáticos (GC), três (37,5%) apresentavam episódio agudo de ICC, sendo as amostras colhidas antes do início de

tratamento. Os outros cinco (62,5%) cães apresentavam um quadro estabilizado da ICC, sendo tratados de forma contínua, conforme o descrito por Keene *et al.* (2019), com o uso de diuréticos associados a inibidores da IECA e pimobendan.

Com relação ao hemograma, os animais do GA apresentaram maior número de linfócitos quando comparado aos outros grupos (Tabela 2). Entretanto, os valores ficaram dentro dos valores de referência para a espécie (JAIN, 1993). Não houve diferença entre os grupos em relação aos outros parâmetros e todos se encontravam dentro dos valores referência.

Tabela 2. Valores da média \pm desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros do hemograma em grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	GA	GB1	GB2	GC	p	Ref
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6,83 \pm 0,68	6,52 \pm 1,08	6,53 \pm 0,84	6,09 \pm 1,40	0,51	5,5-8,5
Hemoglobina (g/dL)	17,21 \pm 1,58	15,73 \pm 3,62	15,17 \pm 1,95	14,43 \pm 3,80	0,22	12-18
Hematócrito (%)	49,50 \pm 4,19	44,20 \pm 9,02	45,77 \pm 6,32	42,75 \pm 10,37	0,28	37-55
VGM (fL)	72,59 \pm 3,43	67,94 \pm 9,44	70,10 \pm 4,07	70,21 \pm 4,98	0,41	60-77
CHGM (%)	34,78 \pm 1,81	34,89 \pm 1,20	33,23 \pm 1,29	33,65 \pm 1,70	0,06	32-36
RDW (%)	13,25 (11,50; 14,00)	13,60 (12,90; 13,80)	14,00 (13,12; 14,27)	14,45 (13,70; 14,95)	0,11	12-15
PPT (g/dL)	7,11 \pm 1,04	7,19 \pm 0,41	6,87 \pm 0,85	6,36 \pm 0,81	0,16	5,6-7,5
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	358,8 \pm 137,6	412,5 \pm 137,7	414,1 \pm 57,4	449,5 \pm 168,0	0,53	200-500
Leucócitos (/ μL)	11088,3 \pm 3126,4	12845,6 \pm 7673,2	11979,1 \pm 4467,6	14861,3 \pm 6440,0	0,56	6000- 17000
Neutrófilos (/ μL)	6288,0 (6207,0; 9591,0)	6654,5 (6080,0; 15429,0)	10164,0 (5045,0; 12357,0)	10577,0 (7520,0; 17787,5)	0,58	3000- 11500
Linfócitos (/ μL)	2477,4 ^a \pm 782,3	1529,6 ^b \pm 754,6	1129,2 ^b \pm 663,4	1415,2 ^b \pm 518,3	0,001	1000- 4800
Eosinófilos (/ μL)	638,5 (302,0; 805,0)	578,5 (502,0; 992,0)	425,0 (126,2; 981,5)	246,0 (0,0; 502,5)	0,27	100- 1250
Monócitos (/ μL)	430,1 \pm 259,5	404,5 \pm 459,7	405,0 \pm 387,3	660,0 \pm 382,4	0,45	150- 1350

VGM: volume glomerular médio, CHGM: concentração de hemoglobina glomerular média, RDW: amplitude de distribuição das hemácias, PPT: proteína plasmática total, p: nível de significância. Ref: valores de referência. Letras minúsculas na mesma linha indicam diferença estatística (Teste de Tukey, $p<0,05$). Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

Na bioquímica sérica, o GC apresentou valores de ureia acima dos valores normais (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008), sendo que sua média foi maior quando comparada com o GA (Tabela 3). Entretanto, não houve diferença nos valores de creatinina e nenhum grupo apresentou valores acima dos valores de referência. Além

disto, a concentração de ALT do GB1 foi maior do que a encontrada no GA. O GB1 também apresentou hiperproteinemia sérica e hiperalbuminemia, mas não houve diferença em relação aos outros grupos.

Tabela 3. Valores da média \pm desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros da bioquímica sérica de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	GA	GB1	GB2	GC	p	Ref
Ureia (mg/dL)	26,5 ^a (23,0; 31,0)	38,0 ^{ab} (30,0; 64,0)	40,0 ^{ab} (22,5; 73,5)	63,0 ^b (44,0; 91,5)	0,01	21,4-59,9
Creatinina (mg/dL)	0,72 \pm 0,23	0,82 \pm 0,36	0,69 \pm 0,23	1,06 \pm 0,34	0,07	0,5-1,5
ALT (UI/L)	38,9 ^a \pm 9,9	78,1 ^b \pm 29,0	58,0 ^{ab} \pm 30,5	74,1 ^{ab} \pm 45,9	0,02	21-102
FA (UI/L)	52,5 (43,0; 77,0)	95,0 (85,5; 270,2)	77,0 (29,5; 110,0)	73,7 (33,5; 103,0)	0,09	20-156
GGT (UI/L)	4,27 \pm 2,27	4,18 \pm 2,85	3,06 \pm 1,65	4,70 \pm 2,95	0,62	1,2-6,4
PST (g/dL)	6,61 \pm 1,04	7,30 \pm 1,79	6,41 \pm 1,51	5,64 \pm 1,07	0,15	5,4-7,1
Albumina (g/dL)	3,26 (3,14; 3,65)	3,79 (2,69; 4,11)	3,32 (2,59; 3,50)	2,84 (2,48; 3,13)	0,23	2,6-3,3
Globulinas (g/dL)	3,34 \pm 0,68	3,82 \pm 1,16	3,25 \pm 1,18	2,80 \pm 0,73	0,23	2,7-4,4

ALT: alanina aminotransferase, FA: fosfatase alcalina, GGT: gama-glutamil transferase, PST: proteína sérica total, p: nível de significância. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$). Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

Em relação à concentração sérica de cortisol e MDA não houve diferença entre os grupos estudados (Tabela 4).

Tabela 4. Valores da média \pm desvio padrão da concentração sérica de malondialdeído (MDA) e cortisol em grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	GA	GB1	GB2	GC	p
MDA (μ mol/L)	1,17 \pm 0,62	0,99 \pm 0,29	1,14 \pm 0,47	1,08 \pm 0,33	0,82
Cortisol (μ g/dL)	8,63 \pm 4,39	9,96 \pm 3,54	8,03 \pm 2,92	11,73 \pm 4,78	0,24

MDA: malondialdeído, p: nível de significância. Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

Na urinálise, a densidade do GA foi maior quando comparado aos outros grupos que apresentavam doença valvar mitral (Tabela 5), entretanto nenhum dos grupos apresentaram isostenúria (MEUTEN, 2012). Houve diferença na relação P:CU entre o GA e o GB1, sendo o primeiro significativamente menor do que o segundo. O GB1 e GB2 apresentaram valores de relação P:CU na faixa limítrofe para proteinúria. Entretanto os animais do GC apresentaram concentração de creatinina urinária menor dos os cães do GA.

Tabela 5. Valores da média±desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros da urinálise em grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	GA	GB1	GB2	GC	p
Densidade	1,050 ^a ±0,016	1,025 ^b ±0,010	1,030 ^b ±0,016	1,018 ^b ± 0,009	<0,001
pH	5,5 (5,5; 6,5)	6,0 (5,5; 6,5)	6,0 (5,8; 7,0)	6,0 (5,2; 6,8)	0,86
Proteína Urinária (mg/dL)	13,0 (10,5; 15,7)	34,5 (9,0; 47,0)	21,0 (10,5; 25,0)	8,0 (3,0; 16,0)	0,15
Creatinina Urinária (mg/dL)	194,8 ^a (116,4; 211,2)	97,8 ^{ab} (71,1; 139,4)	106,0 ^{ab} (25,0; 347,4)	27,7 ^b (22,8; 74,7)	0,02
Relação P:CU	0,05 ^a (0,04; 0,11)	0,27 ^b (0,18; 0,66)	0,22 ^{ab} (0,06; 0,59)	0,17 ^{ab} (0,13; 0,21)	0,005

P:CU: proteína:creatinina urinária, p: nível de significância. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$). Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

No eletrocardiograma houve diferença significativa da onda P, sendo que o grupo A teve duração e amplitude menores que a do grupo C (Tabela 6). A duração da onda P no GC estava acima dos valores de referência (TILLEY, 1995). Os grupos GA e GB1 tiveram uma duração de complexo QRS menor quando comparado com os cães dos grupos GB2 e GC. Em relação à amplitude do complexo QRS, os cães do GA tiveram menores amplitudes do que os animais do GB2. Na análise das ondas pré-cordiais, os cães do GA apresentaram amplitudes menores de onda R nas derivações CV₆LL e CV₆LU em comparação ao GB2.

Em relação ao ritmo, todos os animais do GA apresentaram ritmos considerados normais para a espécie, entretanto no GB1 dois cães apresentaram episódios de complexos supraventriculares prematuros (CSVp) e um animal apresentou taquicardia supraventricular não sustentada. No grupo B2 dois animais apresentaram CSVp, um cão apresentou bloqueio atrioventricular (BAV) de 1º grau e outro teve parada sinusal com episódios de bloqueio atrioventricular. Já no GC, dos 8 animais, apenas três tinham ritmos considerados normais para espécie, outros três tinham episódios de complexos ventriculares isolados, sendo que um deles também apresentava episódios de CSP, dois cães apresentaram apenas episódios de CSP, sendo que um deles também tinha BAV de 1º grau.

Tabela 6. Valores da média±desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros eletrocardiográficos em grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	GA	GB1	GB2	GC	p	Ref
FC (bpm)	107,5 (102,0; 140,0)	125,0 (124,0; 140,0)	130,0 (114,5; 130,0)	140,0 (120,0; 152,5)	0,28	70-160
Eixo (°)	52,2 ±25,2	67,2 ±18,2	53,3 ±15,1	58,5 ±25,4	0,40	40-100
Onda P (s)	0,04 ^a (0,04; 0,04)	0,041 ^{ab} (0,04; 0,05)	0,043 ^{ab} (0,04; 0,04)	0,050 ^b (0,04; 0,05)	0,002	≤0,04
Onda P (mV)	0,25 ^a ±0,06	0,37 ^{ab} ±0,09	0,30 ^{ab} ±0,11	0,38 ^b ±0,13	0,025	≤0,4
PR (s)	0,086 ±0,01	0,086 ±0,01	0,101 ±0,02	0,104 ±0,02	0,10	0,06- 0,13
QRS (s)	0,04 ^a (0,04; 0,04)	0,04 ^a (0,04; 0,04)	0,04 ^b (0,04; 0,05)	0,05 ^b (0,04; 0,05)	<0,001	≤0,05
QRS (mV)	0,97 ^a (0,73; 1,20)	1,26 ^{ab} (1,01; 2,14)	2,00 ^b (1,66; 2,15)	1,40 ^{ab} (0,66; 2,45)	0,01	0,5-3,0
QT (s)	0,18 ±0,01	0,18 ±0,02	0,20 ±0,02	0,19 ±0,01	0,08	0,15- 0,25
Onda R CV ₅ RL (mV)	0,46 ±0,19	0,60 ±0,22	0,67 ±0,28	0,83 ±0,57	0,15	≤3,0
Onda R CV ₆ LL (mV)	0,74 ^a (0,60; 1,05)	0,95 ^{ab} (0,59; 1,74)	1,51 ^b (1,38; 1,81)	1,49 ^{ab} (0,62; 2,40)	0,02	≤3,0
Onda S CV ₆ LL (mV)	0,10 (0,06; 0,17)	0,16 (0,01; 0,47)	0,01 (0,01; 0,07)	0,14 (0,10; 0,30)	0,054	≤0,8
Onda R CV ₆ LU (mV)	0,57 ^a (0,41; 0,98)	0,85 ^{ab} (0,57; 1,74)	1,36 ^b (1,17; 1,55)	1,16 ^{ab} (0,60; 1,94)	0,02	≤3,0

FC: frequência cardíaca, bpm: batimentos por minuto, p: nível de significância. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$). Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

Na avaliação ecocardiográfica, a avaliação em modo M mostrou diferença significativa no diâmetro do átrio esquerdo nos cães do GA em relação ao GB2 e GC. Já a relação AE:Ao dos grupos A e B1 foi menor do que a encontrada nos grupos B2 e C (Tabela 7). O DDNP foi maior nos grupos B2 e C, entretanto o diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole do GB2 superou os outros grupos, incluindo o grupo C. Todos os cães dos grupos B1 e B2 tiveram valores de AE:Ao e DDNP dentro dos valores citados para sua classificação, de acordo com Keene *et al.* (2019). A fração de encurtamento estava acima dos valores normais nos grupos GB2 e GC (BOON, 2005).

Tabela 7. Valores da média \pm desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros ecocardiográficos em modo M de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	GA	GB1	GB2	GC	p
Aorta (mm)	11,6 \pm 1,8	12,7 \pm 3,8	12,0 \pm 2,3	11,6 \pm 2,3	0,8
AE (mm)	14,7 ^a \pm 1,9	18,3 ^{ab} \pm 5,4	22,7 ^b \pm 4,9	23,6 ^b \pm 6,0	0,001
AE:Ao	1,25 ^a (1,18; 1,36)	1,49 ^a (1,40; 1,54)	1,92 ^b (1,66; 2,10)	2,05 ^b (1,83; 2,24)	<0,001
AP (mm)	9,3 \pm 2,1	11,6 \pm 3,0	12,1 \pm 2,6	11,6 \pm 3,4	0,22
SIVd (mm)	6,4 \pm 0,8	6,4 \pm 1,1	6,7 \pm 0,8	6,7 \pm 1,2	0,89
SIVs (mm)	10,1 \pm 1,5	11,1 \pm 2,2	12,7 \pm 1,7	12,1 \pm 2,6	0,057
PLVED (mm)	5,7 (5,3; 8,8)	5,9 (5,4; 7,8)	6,9 (5,5; 7,7)	6,5 (6,2; 7,1)	0,77
PLVEs (mm)	9,7 \pm 2,2	10,0 \pm 2,2	11,0 \pm 2,1	10,6 \pm 0,8	0,28
DIVEd (mm)	21,3 ^a \pm 3,0	24,1 ^{ac} \pm 6,7	34,0 ^b \pm 5,7	29,8 ^c \pm 8,3	<0,001
DIVEs (mm)	12,1 \pm 2,1	13,0 \pm 4,8	17,2 \pm 4,3	15,1 \pm 5,1	0,06
FS (%)	43,0 \pm 3,1	46,4 \pm 6,3	49,9 \pm 5,1	49,5 \pm 9,1	0,08
FE (%)	77,2 (74,5; 78,0)	81,2 (75,0; 83,5)	81,0 (79,6; 83,8)	82,5 (76,0; 84,0)	0,08
SSPE (mm)	2,09 \pm 0,70	2,60 \pm 0,96	2,91 \pm 1,13	2,61 \pm 1,77	0,49
DDNP	1,32 ^a \pm 0,12	1,42 ^a \pm 0,17	2,05 ^b \pm 0,23	1,83 ^b \pm 0,35	<0,001

AE: átrio esquerdo, AE:Ao: relação entre átrio esquerdo e aorta, AP: Diâmetro da artéria pulmonar, SIV: septo interventricular, d: diástole, s: sístole, PLVE: parede livre do ventrículo esquerdo, DIVE: diâmetro interno do ventrículo esquerdo, FS: fração de encurtamento, FE: fração de ejeção, SSPE: separação septal do ponto E, DDNP: diâmetro diastólico normalizado pelo peso, p: nível de significância. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$). Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

No modo Doppler, houve diferença de velocidade de fluxo na valva mitral entre os grupos (Tabela 8). A velocidade da onda E mitral, que representa a passagem de fluxo no momento de diástole ventricular, foi maior no GB2 e GC. Já a velocidade da onda A mitral, que está relacionada ao fluxo durante a sístole atrial, foi significativamente maior apenas no GB2. Entretanto quando analisados os valores na relação entre onda E a A mitral, o GC teve uma média maior do que as dos grupos B1 e B2. Na análise em Doppler colorido, todos os cães dos grupos B1, B2 e C apresentavam algum grau de regurgitação em valva mitral, três cães do GB2 e três cães do GC apresentavam dilatação de artéria pulmonar associada com algum grau de regurgitação em valva pulmonar.

Tabela 8. Valores da média±desvio padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75) dos parâmetros ecocardiográficos em modo Doppler pulsátil de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	GA	GB1	GB2	GC	p
Vel Máx Ao (cm/s)	115,4 ±13,8	118,3 ±40,6	112,0 ±26,5	103,3 ±22,8	0,24
Grad Ao (mmHg)	5,1 (4,2; 7,0)	4,5 (3,7; 7,2)	4,4 (3,2; 5,6)	3,0 (2,8; 3,3)	0,14
Vel Max Pul (cm/s)	98,9 ±19,7	98,5 ±30,8	93,2 ±26,4	86,1 ±16,4	0,66
Grad Pul (mmHg)	4,3 ±1,2	4,1 ±1,9	3,1 ±1,1	3,4 ±1,5	0,52
Onda E Mit (cm/s)	66,0 ^a ±9,4	68,3 ^a ±15,9	90,0 ^b ±8,6	97,0 ^b ±18,3	<0,001
Onda A Mit (cm/s)	55,6 ^a ±17,8	68,4 ^a ±15,9	97,1 ^b ±18,9	66,7 ^a ±25,8	<0,001
E/A Mit	1,25 ^{ab} (1,10; 1,47)	0,91 ^{ab} (0,79; 1,39)	0,92 ^a (0,74; 1,07)	1,52 ^b (1,48; 1,75)	0,01
Onda E Tric (cm/s)	61,7 ±14,3	58,3 ±21,9	60,2 ±14,1	65,1 ±26,3	0,90
Onda A Tric (cm/s)	50,8 (41,9; 56,8)	50,1 (45,1; 62,2)	60,8 (57,6; 73,3)	66,4 (57,5; 72,8)	0,09
E/A Tric	1,22 ±0,26	1,06 ±0,24	0,96 ±0,26	1,07 ±0,56	0,43

Vel Máx: velocidade máxima, Grad: gradiente de fluxo, Ao: aorta, Pul: pulmonar, Mit: mitral, Tric: tricúspide, E/A: relação entre onda E a onda A, p: nível de significância. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$). Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

Na avaliação de radiografia de tórax os grupos GB2 e GC apresentavam VHS maior em relação ao GA (Tabela 9). O GB1 também obteve um VHS menor do que GC, entretanto seu valor médio foi similar ao do GB2. Na mensuração do VLAS, os cães dos grupos A e B1 obtiveram valores significativamente menores em relação aos grupos B2 e C.

Tabela 9. Valor da média ±desvio padrão do *Vertebral Heart Size* (VHS) e *Vertebral Left Atrial Size* (VLAS) de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	GA	GB1	GB2	GC	p
VHS	9,94 ^a ±0,75	10,73 ^{ab} ±0,82	11,48 ^{bc} ±0,67	11,97 ^c ±1,04	<0,001
VLAS	1,93 ^a ±0,26	2,19 ^a ±0,23	2,77 ^b ±0,24	2,86 ^b ±0,46	<0,001

VHS: vertebral Heart Size, VLAS: vertebral left atrial size, p: nível de significância. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$). Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

O grupo GB1 apresentou a maior média de PAS, entretanto não houve diferença significativa quando comparado com a média dos outros grupos (Tabela 10). Nenhum dos grupos apresentaram médias relacionadas à hipertensão sistêmica (BROWN et al., 2007).

Tabela 10. Valor da média \pm desvio padrão da pressão arterial sistêmica de grupos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	GA	GB1	GB2	GC	p
PAS (mmHg)	114,75 $\pm 22,28$	135,25 $\pm 32,60$	125,27 $\pm 21,48$	123,92 $\pm 27,79$	0,40

PAS: pressão arterial sistêmica, p: nível de significância. Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

Na avaliação de correlação, foi encontrada uma relação positiva entre os valores da relação entre AE:Ao encontrados pelo ecocardiograma e o VLAS no exame radiográfico e a duração da onda P no eletrocardiograma, que são parâmetros que sugerem dilatação atrial (Tabela 11).

Tabela 11. Correlação da relação entre átrio esquerdo e aorta no exame ecocardiográfico com *Vertebral Left Atrial Size* (VLAS) e a duração da onda p em cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

	Relação AE:Ao	
	r	p
VLAS	0,81	>0,001
Duração da onda P	0,586	>0,001

AE: átrio esquerdo, Ao: aorta, r: coeficiente de correlação, p: nível de significância, VLAS: vertebral left atrial size. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Foi realizado teste de correlação entre o DDNP, o parâmetro indicado pelo consenso ACVIM e o escore MINE para a avaliação de dilatação ventricular esquerda, com outros parâmetros indicativos de aumento desta câmara: o *Vertebral Heart Size* (VHS) do exame radiográfico, o eixo elétrico, a duração e amplitude do complexo QRS na DII e a amplitude da onda R nas derivações CV₆LL e CV₆LU no exame eletrocardiográfico (Tabela 12). Apenas o eixo elétrico não apresentou correlação significativa com a variação do DDNP nos cães em diferentes estágios de DVM.

Tabela 12. Correlação entre o Diâmetro Diastólico Normalizado pelo Peso (DDNP) com parâmetros radiográficos e eletrocardiográficos relacionados ao aumento de ventrículo esquerdo de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

Parâmetros	DDNP	
	r	p
VHS	0,531	<0,001
Eixo elétrico	-0,027	0,873
Duração complexo QRS (DII)	0,393	0,04
Amplitude complexo QRS (DII)	0,333	0,01
Amplitude onda R (CV ₆ LL)	0,353	0,03
Amplitude onda R (CV ₆ LU)	0,370	0,02

DDNP: diâmetro diastólico normalizado pelo peso, r: coeficiente de correlação, p: nível de significância, VHS: *Vertebral Heart Size*. Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

Não foram encontradas correlações significativas entre os níveis de MDA sérico com medidas ecocardiográficas relacionadas à dilatação, hipertrofia ou atrofia das câmaras cardíacas (Tabela 13).

Tabela 13. Correlação entre os valores de malondialdeído (MDA) com valores relacionados aos tamanhos de câmaras cardíacas nos exames ecocardiográficos de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

Parâmetros	MDA	
	r	p
AE:Ao	0,003	0,982
DDNP	0,014	0,932
SIVd	-0,102	0,549
SIVs	-0,151	0,373
PLVED	-0,056	0,740
PLVEs	-0,079	0,639

MDA: malondialdeído, r: coeficiente de correlação, p: nível de significância, AE:Ao: relação entre átrio esquerdo e aorta, DDNP: diâmetro diastólico normalizado pelo peso, SIV: septo interventricular, d: diástole, s: sistole, PLVE: parede livre do ventrículo esquerdo. Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2022).

Para a análise de correlação do cortisol sérico, foram utilizados parâmetros hematimétricos relacionados com a liberação crônica deste hormônio, além de sua relação com a PAS, devido ao seu efeito vasoconstritor. Neste estudo, não foram encontradas correlações entre esses parâmetros (Tabela 14).

Tabela 14. Correlação entre os valores séricos de cortisol com parâmetros hematimétricos de pressão arterial sistêmica (PAS) de cães em diferentes estágios de doença valvar mitral

Parâmetros	Cortisol	
	r	p
Leucócitos	0,228	0,176
Neutrófilos	0,214	0,202
Linfócitos	-0,204	0,225
Monócitos	0,280	0,093
PAS	0,086	0,612

r: coeficiente de correlação, p: nível de significância, PAS: pressão arterial sistêmica. Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

6. DISCUSSÃO

A doença degenerativa valvar mitral é uma doença de maior prevalência em cães machos, podendo ser até 1,5 vezes mais frequente do que em fêmeas (KEENE et al., 2019; MARTINELLI et al., 2016; MATTIN et al., 2015). Entretanto neste trabalho houve um número maior de fêmeas. A idade média foi de 10,6 anos, sendo próxima daquelas relatadas em outros estudos com DVM (GUGLIELMINI et al., 2020; MATTIN et al., 2015; VEZZOSI et al., 2021a). Segundo Keene *et al.* (2019), cães de porte pequeno (com menos de 20 kg) tem maior prevalência em desenvolver a doença, corroborando com os dados achados neste trabalho. Cães sem raça definida (SRD) foram a maioria entre os animais que desenvolveram a doença, assim como foi encontrado por Vezzosi *et al.* (2021), demonstrando que a DVM não é uma doença exclusiva de raças puras.

A presença de ICC pode levar a uma resposta inflamatória em cães, devido ao aumento circulante de proteína C reativa, por mecanismos ainda não bem esclarecidos, levando a quadros de aumento do número de neutrófilos e monócitos (BOSWOOD, 2009; DRUZHAEVA et al., 2021; HAMILTON-ELLIOTT et al., 2018; PETRIČ et al., 2018). Em contrapartida, neste trabalho, o GA, composto por cães que ainda não desenvolveram a valvulopatia, teve a maior contagem de linfócitos sem haver diferença no número de neutrófilos e monócitos no exame de hemograma, porém seus valores ficaram dentro da normalidade para a espécie, não havendo relevância clínica. Além disso, não houve correlação da contagem de linfócitos com os valores de cortisol, fazendo com que essa variável se torne menos provável como causa do menor valor encontrado nos animais que desenvolveram a doença. Segundo Druzhaeva *et al.* (2021), nos estágios C e D da DVM pode ocorrer a diminuição na contagem de linfócitos T helper (CD4+), porém, essa diminuição não chega a afetar a contagem total de linfócitos quando comparados com os outros estágios da doença. Em humanos, a linfopenia pode ocorrer nos casos de insuficiência cardíaca aguda, sendo considerada inclusive um fator prognóstico nos pacientes internados, e essa alteração foi associada ao estresse crônico causado pelas cardiopatias, levando à exposição crônica de altos níveis de cortisol (RUDIGER et al., 2006; YAMAK et al., 2019). Entretanto, neste trabalho não foi identificado aumento na concentração de cortisol sérico nos cães em estágio C da doença.

O GC apresentou valores na concentração de ureia maiores dos encontrados nos cães hígidos, corroborando com os achados de Martinelli *et al.* (2016), pelo qual se demonstrou que o aumento da concentração de ureia sérica está relacionado ao avanço de DVM, além de quadros de azotemia e doença renal crônica devido a isquemia decorrente da diminuição do débito cardíaco. Outra causa associada ao aumento de ureia em cães é em relação ao grau de desidratação, contudo, apesar dos cães do GC se apresentarem clinicamente doentes, nenhum apresentavam sinais de desidratação (MEUTEN, 2012).

Outra diferença encontrada na bioquímica sérica foi em relação à maior atividade de ALT nos animais em estágio B1 quando comparada à dos hígidos. Isto pode estar relacionado à diminuição do débito cardíaco, causando uma hipoperfusão hepática e necrose de células centrolobulares, o que pode ocasionar um aumento da ALT nas cardiopatias, entretanto esse achado é mais associado ao estágio B2 da DVM ou em quadros de ICC (NIKOLAU *et al.*, 2013; WILSHAW *et al.*, 2021). Em humanos, o aumento de enzimas hepáticas, como a ALT, está associado a quadros de insuficiência cardíaca com diminuição da fração de ejeção, podendo provocar fibrose do tecido hepático (EWID *et al.*, 2020). Nesta pesquisa não houve diferença na variação significativa da fração de ejeção entre o GC e os outros grupos, contudo, parte dos animais estavam sendo medicados com inotrópicos positivos no momento da colheita, o que pode mascarar alterações de contratilidade.

Apesar das ERO estarem relacionadas à fisiopatogenia de doenças cardíacas, ao aumento de marcadores do metabolismo oxidativo como o MDA, e terem um valor preditivo para episódios de insuficiência cardíaca (GIORDANO, 2005; RADOVANOVIC *et al.*, 2012), neste estudo com cães com DVM não foi possível detectar diferença significativa entre os grupos estudados, corroborando com os achados de outros autores, tornando a determinação de estresse oxidativo nesses animais pouco provável pela dosagem de MDA (PRASAD *et al.*, 1996; REIMANN *et al.*, 2017; SVETE *et al.*, 2021; VERK *et al.*, 2017). Em estudo com cães com DVM e cardiomiopatia dilatada, Verk *et al.* (2017) encontraram diferença entre os cães assintomáticos com aqueles com sinais moderados de insuficiência cardíaca, entretanto consideraram este achado como aleatório sem significância biológica. Os valores séricos de MDA encontrados nesta pesquisa são próximos daqueles encontrados por Reimann *et al.* (2017) no plasma de cães em diferentes estágios de

DVM, no qual também não foi encontrada diferença neste parâmetro nos estágios da doença.

De forma semelhante, não se verificou diferença na concentração de cortisol sérico entre os estágios distintos da DVM, diferentemente do que é relatado em humanos, cuja concentração alta de cortisol está relacionada à maior taxa de mortalidade na insuficiência cardíaca (YAMAK et al., 2019). Os valores de cortisol sérico encontrados foram maiores dos que os valores de cortisol plasmático descritos por Tidholm, Häggström e Hansson (2005) em cães em diferentes estágios de cardiomiopatia dilatada, podendo estar relacionado com a técnica utilizada para a dosagem. A dosagem de cortisol em pacientes humanos é recomendada, principalmente por trazer um valor prognóstico nas cardiopatias, entretanto ainda há poucos estudos da relação do cortisol sérico em cães com cardiopatias adquiridas naturalmente, sendo este o primeiro estudo utilizando a técnica de ELISA, que por seu um método com uma fácil replicação devido ao uso de kit comerciais, necessita de mais estudos relacionados a sua dosagem para uma melhor relação com a doença (TIDHOLM; HÄGGSTRÖM; HANSSON, 2005; YAMAK et al., 2019; YUKI et al., 2019).

No GC, a densidade urinária mais baixa, a concentração de ureia mais alta e uma menor quantidade de creatinina urinária podem ser indícios de dano renal, possivelmente relacionada à hipoperfusão neste órgão secundária à doença cardíaca, (FREITAS et al., 2016; MARTINELLI et al., 2016). Contudo, outro fator associado à densidade mais baixa nesse grupo é o uso de diuréticos como parte do tratamento recomendado, o que torna a interpretação para a disfunção neste grupo mais complicado, necessitando de uso de outros biomarcadores renais como o SDMA para uma melhor interpretação (KEENE et al., 2019). O fato de o GB1 apresentar uma relação P:CU maior que o grupo hígido pode estar relacionado com fatores como a dieta e a condição corporal do paciente, uma vez que estes dados podem causar um aumento das proteínas ou creatinina que pode sobrecarregar a capacidade tubular proximal de reabsorção, resultando na maior excreção de proteína na urina (MEUTEN, 2012).

A onda P no exame eletrocardiográfico representa a despolarização dos átrios pelo impulso elétrico gerado pelo nó sinusal, e a sua duração e amplitude elevadas podem ser indicativas de aumento das câmaras atriais esquerda e direita, respectivamente (TILLEY, 1995). Os animais do GC apresentaram os maiores valores nesse parâmetro quando comparados aos animais do grupo A, possivelmente

secundários ao remodelamento cardíaco nesses cães (BOON, 2011; HÄGGSTRÖM; PEDERSEN; KVART, 2004). Já o complexo QRS representa a despolarização do miocárdio ventricular, e a onda R aumentada nas derivações principais e pré-cordiais está principalmente relacionada à expansão do ventrículo esquerdo (TILLEY, 1995). Os grupos B2 e C tiveram a onda R maior do que a dos outros grupos e, apesar de estar dentro dos valores de referência, pode sugerir um aumento do ventrículo esquerdo nesses animais.

Um fato que também chama a atenção no exame eletrocardiográfico é que nenhum dos animais do GA apresentou algum ritmo anormal, enquanto nos outros grupos houve a presença de arritmias ventriculares ou supraventriculares. Isso pode sugerir que o início da doença e seu avanço pode levar ao surgimento de arritmias, que podem ter entre suas causas a dilatação das câmaras causadas pelo remodelamento, corroborando com os dados encontrados por outros autores (GUGLIELMINI et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2014; REIMANN et al., 2014).

As alterações encontradas na avaliação em modo-M do exame ecocardiográfico já eram esperadas, uma vez que elas fazem parte do estadiamento para a DVM estabelecido pelo consenso do ACVIM (KEENE et al., 2019). Na avaliação em modo Doppler, os animais nos estágios mais avançados da doença apresentaram uma maior onda E mitral, que pode estar relacionada com a dilatação do ventrículo esquerdo, uma vez que essa onda representa a passagem do fluxo de sangue de forma passiva para o preenchimento ventricular e seu aumento é esperado com o avanço da doença (BOON, 2011; HEZZELL et al., 2012). O aumento da velocidade da onda E mitral está diretamente relacionada com a mortalidade da DVM, ou seja, quanto maior a velocidade da E maior o risco de óbito do paciente, corroborando com achados neste trabalho, uma vez que o grupo com estágio mais avançado da doença também apresentou esta alteração, e um estudo prospectivo pode ser utilizado para a confirmação deste dado (HEZZELL et al., 2012; VEZZOSI et al., 2021).

A diferença entre os grupos em relação ao VHS já era esperada, pois também é um exame de parâmetro para o estadiamento da doença (KEENE et al., 2019), contudo o valor encontrado desse parâmetro no estágio B1 foi maior do que o indicado pelo consenso ACVIM. Isto sugere que a análise do VHS deve ser sempre acompanhada do exame ecocardiográfico para uma melhor avaliação da presença de dilatação cardíaca. Segundo Poad *et al.* (2019) o VHS maior que 10,8 possui uma maior correlação com a dilatação cardíaca encontrada na DVM em cães, o que

corrobora com o achado desta pesquisa. O VLAS maior que 2,6 é indicativo de aumento de aumento atrial, como foi encontrado neste trabalho, sugerindo que uma possível associação de VHS e VLAS possa ajudar na determinação de dilatação cardíaca na radiografia.

Apesar dos estímulos para a vasoconstrição pela ativação do SRAA durante a evolução da DVM, não se verificou alteração na PAS dos cães nos diferentes estágios da doença, nem o surgimento de hipertensão sistêmica e tampouco houve uma correlação da PAS com os níveis de cortisol nos cães, corroborando com os achados de outros autores (KIM et al., 2017; PETIT et al., 2013). Segundo Keene *et al.* (2019) variações na PAS ao longo da evolução da DVM podem não acontecer, entretanto sua monitoração ainda é aconselhada.

A relação entre o diâmetro do átrio esquerdo com a aorta no exame ecocardiográfico é considerada o método de avaliação de dilatação atrial mais preciso nos casos de DVM em cães (HANSSON et al., 2002; KEENE et al., 2019; VEZZOSI et al., 2021a). Nesta pesquisa esse parâmetro demonstrou uma boa relação principalmente com o VLAS, corroborando com os resultados de outros autores (MALCOLM et al., 2018; POAD et al., 2020; SALGUERO et al., 2018). Entretanto, deve o VLAS ser analisado com cuidado, pois sua correlação com dilatação de átrio é considerada moderada e sua sensibilidade igual ao VHS, não sendo recomendada sua utilização isolada para a determinação de cardiomegalia (MALCOLM et al., 2018; POAD et al., 2020).

A duração da onda P representa o tempo que a despolarização atrial leva desde sua origem no nó sinoatrial até sua chegada na junção atrioventricular, sendo este tempo principalmente representativo para a despolarização do átrio esquerdo, e assim seu tempo pode ser relacionado com o aumento desta câmara (TILLEY, 1995). Houve uma relação positiva entre esse parâmetro e a dilatação atrial observada no ecocardiograma, indicando que essa medida deve ser levada em consideração nos casos de cães suspeitos de remodelamento cardíaco por DVM.

Assim como a relação entre AE:Ao para dilatação atrial esquerda, o DDNP é uma medida considerada confiável para a determinação de dilatação ventricular esquerda, uma vez que ela permite uma avaliação alométrica desta câmara, diminuindo a potência do fator peso do animal durante a avaliação (CORNELL et al., 2004; KEENE et al., 2019; VEZZOSI et al., 2021a). Apesar de demonstrar uma relação significativa com o VHS, a duração e amplitude da onda R na DII e as amplitudes da

onda R nas derivações pré-cordiais CV₆LL e CV₆LU, estas medidas não devem ser utilizadas para substituir a avaliação ecocardiográfica, uma vez que estas variáveis podem sofrer interferências como peso do animal, formato do tórax e presença de efusão torácica, sendo que estes fatores também podem justificar a falta de relação do DDNP com o eixo elétrico (TILLEY, 1995; TILLEY; GOODWIN, 2002).

Não houve correlação nos valores de MDA com as medidas do exame ecocardiográfico relacionado ao remodelamento cardíaco, diferente do que foi encontrado em humanos, o qual já é estabelecida uma relação positiva entre o aumento do átrio esquerdo e da presença de hipertensão com a presença de estresse oxidativo, e uma correlação negativa com a FE com a concentração de MDA (CHEN et al., 2009; POLIDORI et al., 2002). Já em cães com DVM as correlações já identificadas com os valores de MDA são com sexo, escore corporal e concentração sérica de colesterol (REIMANN et al., 2017). Porém, em estudo com MDA tecidual em cães com regurgitação mitral realizado por Prasad et al. (1996), foi notada uma maior concentração nos cães doentes quando comparados com os animais hígidos. Portanto a formação de MDA nas cardiopatias pode ocorrer, entretanto não é refletida na sua concentração sérica, a não ser quando relacionada a outros fatores não cardíacos, por isso mais estudos com outros marcadores de metabolismo oxidativo devem ser pesquisados.

O estresse já foi relacionado a alterações como a neutrofilia, monocitose e linfopenia, e as doenças cardíacas podem produzir um efeito de estresse crônico no paciente causando, desta maneira, estes efeitos no exame de hemograma (BEERDA et al., 2000; HAMILTON-ELLIOTT et al., 2018; TIDHOLM; HÄGGSTRÖM; HANSSON, 2005). Entretanto neste estudo não houve relação entre os achados de leucograma com as concentrações de cortisol, tornando o fator estresse menos provável como causa da menor contagem de linfócitos nos grupos que desenvolveram DVM.

7. CONCLUSÃO

A doença degenerativa valvar mitral em cães além de causar as alterações nos parâmetros ecocardiográficos e radiográficos, como já é bem estabelecido, também pode causar alterações nos exames de hemograma, bioquímica sérica e urinálise que podem estar relacionados a evolução da doença ou outros fatores individuais ou da terapia estabelecida. Alterações eletrocardiográficas ocorrem, dependendo do seu estágio da doença, sendo importante incluir estas análises durante a avaliação clínica do paciente. Apesar do malondialdeído e o cortisol poderem estar relacionados à fisiopatogenia da DVM, a gravidade da doença não levou a alterações significativas em suas concentrações séricas, não havendo também relação entre suas concentrações com os parâmetros ecocardiográficos e hematimétricos, respectivamente. Os achados ecocardiográficos utilizados para determinar a presença de remodelamento cardíaco demonstraram uma relação positiva com parâmetros radiográficos e eletrocardiográficos, porém sua interpretação deve ser utilizada com cautela.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELLO, L. M. V. et al. Understanding right ventricular dysfunction and functional tricuspid regurgitation accompanying mitral valve disease. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 145, n. 5, 2013.
- AHMED, M. I. et al. Increased oxidative stress and cardiomyocyte myofibrillar degeneration in patients with chronic isolated mitral regurgitation and ejection fraction >60%. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 55, n. 7, p. 671–679, 2010.
- ANAND, I. et al. Anemia and its relationship to clinical outcome in heart failure. **Circulation**, v. 110, n. 2, p. 149–154, 2004.
- BEERDA, B. et al. Behavioural and hormonal indicators of enduring environmental stress in dogs. **Article in Animal welfare**, v. 9, p. 49–62, 2000.
- BERNAY, F. et al. Efficacy of spironolactone on survival in dogs with naturally occurring mitral regurgitation caused by myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 1, p. 331–341, 2010.
- BLACK, A. et al. Ultrastructural morphologic evaluation of the phenotype of valvular interstitial cells in dogs with myxomatous degeneration of the mitral valve. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 8, p. 1408–1414, 2005.
- BOON, J. A. **Ecocardiografia Bidimensional e em Modo-M - para o clínico de pequenos animais**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2005.
- BOON, J. A. **Veterinary Ecocardiography**. 2. ed. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2011.
- BORGARELLI, M. et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 1, p. 120–128, 2008.
- BORGARELLI, M.; BUCHANAN, J. W. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 93–101, 2012.
- BOSWOOD, A. Biomarkers in cardiovascular disease: Beyond natriuretic peptides. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 11, n. SUPPL. 1, 2009.
- BOSWOOD, A. et al. Effect of pimobendan in dogs with preclinical myxomatous mitral valve disease and cardiomegaly: The EPIC Study—a randomized clinical trial. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 6, p. 1765–1779, 2016.
- BOSWOOD, A. et al. Longitudinal analysis of quality of life, clinical, radiographic, echocardiographic, and laboratory variables in dogs with preclinical myxomatous mitral valve disease receiving pimobendan or placebo: The EPIC Study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 1, p. 72–85, 2018.

BROWN, S. et al. Guidelines for the Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 542–558, 2007.

BUCHANAN, J. W.; BÜCHELER, J. Vertebral scale system to measure canine heart size in radiographs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 206, n. 2, p. 194–199, 1995.

CACHOFEIRO, V. et al. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. **Kidney International**, v. 74, n. SUPPL. 111, p. 54–59, 2008.

CHAMAS, P. P. C. et al. Prevalência da doença degenerativa valvar crônica mitral em cães. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 9, n. 2, p. 44–45, 2011.

CHEN, M. C. et al. Increased serum oxidative stress in patients with severe mitral regurgitation: A new finding and potential mechanism for atrial enlargement. **Clinical Biochemistry**, v. 42, n. 10–11, p. 943–948, 2009.

CHETBOUL, V. et al. Effects of animal position and number of repeated measurements on selected two-dimensional and M-mode echocardiographic variables in healthy dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 5, p. 743–747, 2005.

CHETBOUL, V. et al. Short-term efficacy and safety of torasemide and furosemide in 366 dogs with degenerative mitral valve disease: The TEST Study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 6, p. 1629–1642, 2017.

COHN, J. N.; TOGNONI, G. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 23, p. 1667–1675, 2001.

CORNELL, C. C. et al. Allometric scaling of m-mode cardiac measurements in normal adult dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, p. 311–321, 2004.

DRUZHAEVA, N. et al. Peripheral blood lymphocyte subtypes in dogs with different stages of myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 5, p. 2112–2122, 2021.

EWID, M. et al. AST/ALT ratio predicts the functional severity of chronic heart failure with reduced left ventricular ejection fraction. **BMC Research Notes**, v. 13, n. 178, p. 1–6, 2020.

FEITOSA, F. L. F. Exame Físico Geral ou de Rotina. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária - A arte do diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 77–102.

- FERRARI, R. et al. Oxidative stress during myocardial ischaemia and heart failure. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, n. 14, p. 1699–1711, 2004.
- FONFARA, S. et al. Myocardial cytokine expression in dogs with systemic and naturally occurring cardiac diseases. **American Journal of Veterinary Research**, v. 74, n. 3, p. 408–416, 2013.
- FOX, P. R. Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 103–126, 2012.
- FREEMAN, L. M.; RUSH, J. E.; MARKWELL, P. J. Effects of dietary modification in dogs with early chronic valvular disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 5, p. 1116–1126, 2006.
- FREITAS, R. D. A. et al. Estadiamento da doença renal crônica em cães domésticos com doença valvar crônica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 38, n. 2, p. 31–39, 2016.
- GIORDANO, F. J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 3, p. 500–508, 2005.
- GLADDEN, J. D. et al. Oxidative stress and myocardial remodeling in chronic mitral regurgitation. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 342, n. 2, p. 114–119, 2011.
- GUGLIELMINI, C. et al. Prevalence and risk factors for atrial fibrillation in dogs with myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 6, p. 2223–2231, 2020.
- HÄGGSTRÖM, J.; PEDERSEN, H. D.; KVART, C. New insights into degenerative mitral valve disease in dogs. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 34, n. 5, p. 1209–1226, 2004.
- HAMILTON-ELLIOTT, J. et al. White blood cell differentials in dogs with congestive heart failure (CHF) in comparison to those in dogs without cardiac disease. **Journal of Small Animal Practice**, v. 59, n. 6, p. 364–372, 2018.
- HAMLIN, R. L. Geriatric heart diseases in dogs. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 35, n. 3, p. 597–615, 2005.
- HANSSON, K. et al. Left atrial to aortic root indices using two-dimensional and m-mode echocardiography in Cavalier King Charles Spaniels with and without left atrial enlargement. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v. 43, n. 6, p. 568–575, 2002.
- HEZZELL, M. J. et al. Selected echocardiographic variables change more rapidly in dogs that die from myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 269–279, 2012.
- IOB, E.; STEPTOE, A. Cardiovascular disease and hair cortisol: a novel biomarker of chronic stress. **Current Cardiology Reports**, v. 21, n. 116, p. 1–11, 2019.

- IVERSEN, P. O. et al. Decreased hematopoiesis in bone marrow of mice with congestive heart failure. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 282, n. 1, p. 166–172, 2002.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. 1. ed. Philadelphia: Lea Febiger, 1993.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic**. 6. ed. San Diego: Academic Press Elsevier, 2008.
- KEENE, B. W. et al. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 3, p. 1127–1140, 2019.
- KELLIHAN, H. B.; STEPIEN, R. L. Pulmonary hypertension in canine degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 149–164, 2012.
- KIM, H.-T. et al. Retrospective study of degenerative mitral valve disease in small-breed dogs: survival and prognostic variables. **Journal of Veterinary Science**, v. 18, n. 3, p. 369–376, 2017.
- KOMAMURA, K. et al. Exhaustion of Frank-Starling mechanism in conscious dogs with heart failure. **American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology**, v. 265, n. 4 34-4, 1993.
- KOURIE, J. I. Interaction of reactive oxygen species with ion transport mechanisms. **American Journal of Physiology**, v. 275, p. C1–C24, 1998.
- LAMB, C. R. et al. Use of breed-specific ranges for the vertebral heart scale as an aid to the radiographic diagnosis of cardiac disease in dogs. **The Veterinary Record**, v. 148, n. 1, p. 707–711, 2001.
- LANE, M. B. et al. Analytic performance evaluation of a veterinary-specific ELISA for measurement of serum cortisol concentrations of dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 253, n. 13, p. 1580–1588, 2018.
- LEWIS, T. et al. Heritability of premature mitral valve disease in Cavalier King Charles spaniels. **Veterinary Journal**, v. 188, n. 1, p. 73–76, 2011.
- LIAO, J.; VESELY, I. A structural basis for the size-related mechanical properties of mitral valve chordae tendineae. **Journal of Biomechanics**, v. 36, n. 8, p. 1125–1133, 2003.
- MACFADYEN, R. J. et al. How often are angiotensin II and aldosterone concentrations raised during chronic ACE inhibitor treatment in cardiac failure? **Heart**, v. 82, n. 1, p. 57–61, 1999.

- MALCOLM, E. L. et al. Diagnostic value of vertebral left atrial size as determined from thoracic radiographs for assessment of left atrial size in dogs with myxomatous mitral valve disease. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 253, n. 8, p. 1038–1045, 2018.
- MARTINELLI, E. et al. Preliminary Investigation of Cardiovascular–Renal Disorders in Dogs with Chronic Mitral Valve Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 5, p. 1612–1618, 2016.
- MATTIN, M. J. et al. Prevalence of and risk factors for degenerative mitral valve disease in dogs attending primary-care veterinary practices in England. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 3, p. 847–854, 2015.
- MEUTEN, D. Laboratory Evaluation and Interpretation of the Urinary System. In: THRALL, M. A. et al. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. 2. ed. Ames: John Wiley & Sons, Inc., 2012. p. 323–377.
- MIZUNO, T.; MIZUKOSHI, T.; UECHI, M. Long-term outcome in dogs undergoing mitral valve repair with suture annuloplasty and chordae tendinae replacement. **Journal of Small Animal Practice**, v. 54, n. 2, p. 104–107, 2013.
- MORGAN, K. R. S. et al. Echocardiographic parameters for the assessment of congestive heart failure in dogs with myxomatous mitral valve disease and moderate to severe mitral regurgitation. **Veterinary Journal**, v. 263, p. 1–6, 2020.
- NIKOLAU, M. et al. Liver function abnormalities, clinical profile, and outcome in acute decompensated heart failure. **European Heart Journal**, v. 34, p. 742–749, 2013.
- OLIVEIRA, M. S. et al. Heart rate variability and arrhythmias evaluated with Holter in dogs with degenerative mitral valve disease. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 425–432, 2014.
- OLSEN, L. H.; FREDHOLM, M.; PEDERSEN, H. D. Epidemiology and inheritance of mitral valve prolapse in Dachshunds. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 13, n. 5, p. 448–456, 1999.
- OYAMA, M. A. et al. Comparative pathology of human and canine myxomatous mitral valve degeneration: 5HT and TGF- β mechanisms. **Cardiovascular Pathology**, v. 46, p. 1–11, 2020.
- PEDDLE, G. D. et al. Effect of torsemide and furosemide on clinical, laboratory, radiographic and quality of life variables in dogs with heart failure secondary to mitral valve disease. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 253–259, 2012.
- PEDERSEN, H. D. et al. Activation of the renin-angiotensin system in dogs with asymptomatic and mildly symptomatic mitral valvular insufficiency. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 9, n. 5, p. 328–331, 1995.

PEREIRA, P. M.; CAMACHO, A. A.; MORAIS, H. A. Tratamento de insuficiência cardíaca com benazepril em cães com cardiomiopatia dilatada e endocardiose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. SUPPL. 2, p. 141–148, 2005.

PERIN, C. et al. Endocardiose da valva mitral em cães. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 8, p. 1–6, 2007.

PETIT, A. M. et al. Systolic arterial blood pressure in small-breed dogs with degenerative mitral valve disease: A prospective study of 103 cases (2007-2012). **Veterinary Journal**, v. 197, n. 3, p. 830–835, 2013.

PETRIĆ, A. D. et al. Systemic inflammation in dogs with advanced-stage heart failure. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 60, n. 1, p. 1–9, 2018.

PIMENTEL, D. R. et al. Reactive oxygen species mediate amplitude-dependent hypertrophic and apoptotic responses to mechanical stretch in cardiac myocytes. **Circulation Research**, v. 89, n. 1, p. 453–460, 2001.

POAD, M. H. et al. Utility of radiographic measurements to predict echocardiographic left heart enlargement in dogs with preclinical myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 5, p. 1728–1733, 2020.

POLIDORI, M. C. et al. Plasma lipophilic antioxidants and malondialdehyde in congestive heart failure patients: relationship to disease severity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 32, n. 2, p. 148–152, 2002.

PRASAD, K. et al. Oxidative stress as a mechanism of cardiac failure in chronic volume overload in canine model. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 28, n. 2, p. 375–385, 1996.

RADOVANOVIC, S. et al. Markers of oxidative damage and antioxidant enzyme activities as predictors of morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. **Journal of Cardiac Failure**, v. 18, n. 6, p. 493–501, 2012.

REIMANN, M. J. et al. R-R interval variations influence the degree of mitral regurgitation in dogs with myxomatous mitral valve disease. **Veterinary Journal**, v. 199, n. 3, p. 348–354, 2014.

REIMANN, M. J. et al. Markers of oxidative stress in dogs with myxomatous mitral valve disease are influenced by sex, neuter status, and serum cholesterol concentration. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 2, p. 295–302, 2017.

REINERO, C. et al. ACVIM consensus statement guidelines for the diagnosis, classification, treatment, and monitoring of pulmonary hypertension in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 2, p. 549–573, 2020.

RICHARDS, J. M. et al. The mechanobiology of mitral valve function, degeneration, and repair. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 47–58, 2012.

ROMUK, E. et al. Malondialdehyde and uric acid as predictors of adverse outcome in patients with chronic heart failure. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, 2019.

RONCO, C. et al. Cardiorenal Syndrome. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 52, n. 19, p. 1527–1539, 2008.

RUDIGER, A. et al. The relative lymphocyte count on hospital admission is a risk factor for long-term mortality in patients with acute heart failure. **American Journal of Emergency Medicine**, v. 24, n. 4, p. 451–454, 2006.

RUSH, J. E. Chronic valvular heart disease. **Proceeding of the 26th Annual Waltham diets/OSU Symposium for the Treatment of Small Animal Cardiology**, p. 107, 2002.

RUSSELL, N. J. et al. Comparison of radioimmunoassay and chemiluminescent assay methods to estimate canine blood cortisol concentrations. **Australian Veterinary Journal**, v. 85, n. 12, p. 487–494, 2007.

SALGUERO, X. S. et al. A radiographic measurement of left atrial size in dogs. **Irish Veterinary Journal**, v. 71, n. 25, p. 1–7, 2018.

SANTOS, R. A. S.; FAGUNDES-MOURA, C. R.; SILVA, A. C. S. Efeitos cardiovasculares e renais do sistema renina-angiotensina. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 7, n. 3, p. 227–236, 2000.

SERRES, F. et al. Chordae tendineae rupture in dogs with degenerative mitral valve disease: Prevalence, survival, and prognostic factors (114 cases, 2001-2006). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 2, p. 258–264, 2007.

SILVA, A. C. S.; PINHEIRO, S. V. B.; SANTOS, R. A. S. Peptídeos e interação coração-rim Peptides and interaction heart-kidney. **Rev Bras Hipertens**, v. 15, n. 3, p. 134–143, 2008.

STEPIEN, R. L. Pulmonary arterial hypertension secondary to chronic left-sided cardiac dysfunction in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. SUPPL. 1, p. 34–43, 2009.

STROHM, L. E. et al. Two-dimensional, long-axis echocardiographic ratios for assessment of left atrial and ventricular size in dogs. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 20, n. 5, p. 330–342, 2018.

SUZUKI, S. et al. The effect of pimobendan on left atrial pressure in dogs with mitral valve regurgitation. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 6, p. 1328–1333, 2011.

SVETE, A. N. et al. Inflammation and its association with oxidative stress in dogs with heart failure. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 176, p. 1–10, 2021.

SWIFT, S.; BALDIN, A.; CRIPPS, P. Degenerative valvular disease in the Cavalier King Charles Spaniel: results of the UK breed scheme 1991–2010. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 1, p. 9–14, 2017.

THASSAKORN, P. et al. Effect of atorvastatin on oxidative stress and inflammation markers in myxomatous mitral valve disease in dogs: A comparison of subclinical and clinical stages. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 42, n. 3, p. 258–267, 2019.

TIDHOLM, A.; HÄGGSTRÖM, J.; HANSSON, K. Vasopressin, cortisol, and catecholamine concentrations in dogs with dilated cardiomyopathy. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 10, p. 1709–17017, 2005.

TILLEY, L. P. **Essentials of Canine and Feline Eletrocardiography: Interpretation and Treatment**. 3^a ed. Filadelfia: Lea Febiger, 1995.

TILLEY, L. P.; GOODWIN, J. K. **Manual de Cardiologia para Cães e Gatos**. 3^a ed. São Paulo: Roca, 2002.

TOALDO, M. B. et al. Echocardiographic predictors of first onset of atrial fibrillation in dogs with myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 5, p. 1787–1793, 2020.

VATNIKOV, Y. A. et al. Left ventricular myocardial remodeling in dogs with mitral valve endocardiosis. **Veterinary World**, v. 13, n. 4, p. 731–738, 2020.

VERK, B. et al. Markers of oxidative stress in dogs with heart failure. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 29, n. 5, p. 636–644, 2017.

VEZZOSI, T. et al. The Mitral INsufficiency Echocardiographic score: A severity classification of myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 3, p. 1238–1244, 2021.

VINCENT, C.; MICHELL, A. R. Comparison of cortisol concentrations in saliva and plasma of dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 53, p. 342–345, 1992.

WARE, W. A. Doenças do Sistema Cardiovascular. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Mosby Elsevier, 2010. p. 1–206.

WHITNEY, J. G. Observations on the effect of age on the severity of heart valve lesions in the dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 15, n. 8, p. 511–522, 1974.

WHITWORTH, J. A. et al. Cardiovascular consequences od cortisol excess. **Vascular Health and Risk Management**, v. 1, n. 4, p. 291–299, 2005.

WILSHAW, J. et al. Accuracy of history, physical examination, cardiac biomarkers, and biochemical variables in identifying dogs with stage B2 degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 2, p. 755–770, 2021.

YAMAK, M. et al. Cortisol as a Predictor of Early Mortality in Heart Failure. **Southern Clinics of Istanbul Eurasia**, v. 31, n. 1, p. 42–45, 2019.

YUKI, M. et al. Investigation of serum cortisol concentration as a potential prognostic marker in hospitalized dogs: A prospective observational study in a primary care animal hospital. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, 2019.

ZATZ, R. **Série Fisiopatologia Clínica - Fisiopatologia Renal**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2002.