

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

CARDIOMIOPATIA HIPERTENSIVA EM CÃES COM LEISHMANIOSE
VISCERAL

Pedro Pablo Martinez Padua
Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**CARDIOMIOPATIA HIPERTENSIVA EM CÃES COM LEISHMANIOSE
VISCERAL**

Pedro Pablo Martinez Padua

Orientador: Prof. Dr. Aparecido Antonio Camacho

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (área de concentração em Clínica Médica Veterinária).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2013

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PEDRO PABLO MARTÍNEZ PADUA – Nascido em 18 de março de 1982 na Cidade de Bogotá d.c. Colômbia, graduado em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de la Salle, Bogotá d.c. Colômbia, em 23 de fevereiro de 2007. Em março de 2007 ingressou no programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Área de Concentração em Clínica Médica Veterinária, no curso de Mestrado concluindo o curso com dissertação intitulada “PARTICIPAÇÃO DA EXCREÇÃO RENAL DE CÁLCIO, FÓSFORO, SÓDIO E POTÁSSIO NA HOMEOSTASE EM CÃES SADIOS E DOENTES RENAI CRÔNICOS” em fevereiro de 2009. No mês de março do mesmo ano, da continuidade aos seus estudos de Pós-graduação do mesmo programa ingressando ao curso de Doutorado em Medicina Veterinária na mesma instituição.

*Hoje comereis grãos caídos,
Amanha semeareis,
E depois colhereis.
A colheita será proporcional à qualidade do semeado*

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar presente em todo momento de minha vida, me fortalecendo e me acompanhando cada passo e assim poder realizar mais uma conquista.

Ao meu pai Pedro Pablo quem tem sido um exemplo profissional e quem me deixou a tarefa difícil de lhe-superar profissionalmente e a minha mãe Ana Delia pelo sacrifício e dedicação que desde criança formou a pessoa que sou hoje em dia. Obrigado pelo apoio, confiança, incentivo, que tornaram possível alcançar esta meta.

Aos meus irmãos Ivan, Ana Maria e Juana Valentina, pelo carinho, amizade e apoio durante a vida toda, pois o que finalmente nos resta é a família.

Ao meu orientador Prof. Dr. Aparecido Antonio Camacho pela grande oportunidade oferecida, e ante tudo acreditar em mim, agradeço o apoio conselhos e ensinamentos, sua orientação na minha vida prevalecerá por sempre.

Aos meus amigos da republica Arapuca, e aos grandes amigos Fabio e Fabrício com os quais compartilhei inesquecíveis momentos e se tornaram minha família aqui no Brasil.

Ao meus grandes amigos Luigi Melo, Camilo Hernandez e Freddie Brewer pelo carinho, amizade verdadeira, conselhos e apoio durante este trajeto.

Aos ex-moradores e moradores do antro do H.V, que estiveram presentes neste tempo de formação e com quem compartilhei grandes momentos de amizade.

A Professora Mary Marcondes por seu exemplo profissional e pessoal, quem me abriu as portas da UNESP/ARAÇATUBA e tornou possível realizar meu projeto de Doutorado além de deixar uma grande pegada desse tempo em minha vida.

Aos colegas e amigos do Serviço de Cardiologia da FCAV – Jaboticabal: Edna, Evandro, Fábio, Fabrício, Fernando, Rafael, Roberto, e Rodrigo, pela amizade, convivência, ensinamentos e experiências de vida.

Ao Eugênio, que faz parte do serviço do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da FCAV – Unesp – Campus de Jaboticabal, pela amizade e colaboração na realização dos exames laboratoriais.

Aos cães que cumpriram um papel fundamental na realização deste trabalho.

A todas as pessoas que fizeram parte deste processo e que em algum momento cumpriram papéis fundamentais no desenvolvimento e realização desta etapa.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO:.....	x
ABSTRACT:	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 LABORATÓRIOS	15
3.2 ANIMAIS.....	15
3.3 EXAME PARASITOLÓGICO DE LINFONODO, MEDULA ÓSSEA	15
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	16
3.5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	16
3.5.1 Determinação da pressão arterial	16
3.5.2 Avaliação da função cardíaca	17
3.5.2.1 Exame eletrocardiográfico.....	17
3.5.2.2 Ecodopplercardiografia.....	17
3.5.2.3 Exames radiográficos do tórax	18
3.5.3 Avaliação laboratorial	19
3.5.3.1 Análises bioquímicas séricas e urinárias.....	19
3.5.3.2 Determinação das concentrações sanguíneas da aldosterona, renina, troponina i, desidrogenase láctica 1 (LDH1) e creatina quinase fração MB (CK-MB)	19
3.5.4 Avaliação da proteinúria	20
3.5.5 Excreção fracionada de eletrólitos	20
3.5.6 Eutanásia	20
3.5.7 Necropsia	21
3.5.8 Exame histopatológico do coração.....	21
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
4. RESULTADOS	23
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÕES	54
7. REFERÊNCIAS	55

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Fotomicrografia de exame parasitológico direto por citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) de medula óssea de cão proveniente de área endêmica para leishmaniose visceral, evidenciando a presença de *Leishmania* SP. (seta). Panótico Rápido®. Obj. 100x. (Araçatuba-SP, 2013)23
- Figura 2** – Representações gráficas das médias e respectivos desvios padrão das análises estatísticas de parâmetros dos grupos de cães com LV, G1, G2 e G3. Parâmetros: A. Onda P em (ms) e B. intervalo PR (ms). UNESP - Jaboticabal, 2013.24
- Figura 3** – Representações gráficas das médias e respectivo erros padrão das análises estatísticas de parâmetros ecocardiográficos indexados por área de superfície corpórea dos grupos de cães G1, G2 e G3. Parâmetros: A: SIVd, PLVEd. B: FEJ, FEC. C: SIV%, MVE. UNESP - Jaboticabal, 2013.....26
- Figura 4** - Imagens ecocardiográficas em modo-B e modo-M, no eixo transversal, plano cordal, em cães com LV. (A) Cão com LV do G1. (B) Cão com LV do G2. (C) Cão com LV do G3. Evidencia-se aumento de SIV (seta branca) e hipercinesia do VE (seta vermelha inferior) no cão com LV do G3. UNESP, Jaboticabal – SP, 2013.27
- Figura 5** – Representações gráficas das médias e respectivos erros padrão das análises estatísticas de parâmetros ecocardiográficos dos grupos de cães com LV do G1, G2 e G3. Parâmetros: A: IEPFs. B: IEPFd- Jaboticabal, 2013.28
- Figura 6** – Representações gráficas das médias e respectivos erros padrão das análises estatísticas relativas à: A: TEI, B: TRIV e C: FVI de cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.30

Figura 7 – Representações gráficas das médias e respectivos erros padrão dos biomarcadores relativos à: A. CK-MB e Renina. B. Aldosterona, e Troponina I, em cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.32

Figura 8 – Miocárdio de dois cães com LV do G3 mostrando a hipertrofia do VE (*) e dilatação do AD ()Obj. 100x. (Araçatuba-SP, 2013).....33

Figura 9 – Representações gráficas das médias e respectivos erro padrão de parâmetros da função renal relativos à: A: Uréia sérica e Cálcio sérico, B: Fósforo sérico e Magnésio sérico, C: UPC, EF sódio, em cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.....36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios e desvios padrão relativos ao peso, de cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.....	23
Tabela 2 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros eletrocardiográficos referentes à onda P, intervalo PR, complexo QRS, onda Q, onda R, intervalo QT, eixo cardíaco e FC, de cães com LV dos grupos G1, G2 e G3, UNESP - Jaboticabal, 2013.	24
Tabela 3 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros ecocardiográficos indexados por área de superfície corpórea referentes ao DIVDd, SIVd, DIVEd, PLVEd, SIVs, DIVEs, PLVEs, FEJ, FEC, SIV%, PLVE%,MVE, de cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.	25
Tabela 4 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros ecocardiográficos referentes IEPFs, IEPFd, de cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.	27
Tabela 5 – Valores médios e desvios padrão dos parâmetros relativos à AE/AO FVI mitral, E mitral, A mitral, E/A mitral, aceleração E mitral, desaceleração E mitral, FVI tricúspide, E tricúspide, A tricúspide, E/A tricúspide, em cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.	29
Tabela 6 - Valores médios e desvios padrão relativos à TEI, TCIV, TRIV, FVI aorta, Pico Vel aorta, Aceleração Fluxo aórtico, Tempo de Ejeção VE, FVI pulmonar, Pico Vel pulmonar, em cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.	30

Tabela 7 - Valores médios e desvios padrão relativos ao parâmetro radiográfico de escala vertebral (VHS) de cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.31

Tabela 8 - Valores médios e desvios padrão relativos aos biomarcadores: CK-MB, LDH, Renina, Aldosterona, cTnI de cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.31

Tabela 9 - Valores médios e desvios padrão relativos à parâmetros histopatológicos: infiltrado inflamatório (Inflamação) do ventrículo esquerdo e ventrículo direito (VE e VD), granuloma do VE e VD e necrose do VE e VD de cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.34

Tabela 10 - Médias, desvio padrão e dados estatísticos de parâmetros da função renal relativos à: Creatinina sérica(mg/dl), Uréia sérica(mg/dl), Cálcio sérico(mg/dl), Fósforo sérico(mg/dl), Magnésio sérico(mg/dl), Sódio sérico(mEq/L), UPC, EF sódio(%), EF cálcio(%), EF fósforo(%), EF magnésio(%), em cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.35

CARDIOMIOPATIA HIPERTENSIVA EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL

RESUMO: A leishmaniose visceral (LV) é uma doença multissistêmica. Em cães com LV, poucos estudos mencionam os mecanismos fisiopatológicos que levam a quadros de hipertensão arterial, e também não são bem esclarecidas as consequências da hipertensão sistêmica sobre a função miocárdica de cães acometidos pela doença. Entretanto, sabe-se que um dos principais órgãos a serem acometidos são os rins, e quando comprometidos, são desenvolvidos mecanismos fisiopatológicos que levam a quadros de hipertensão arterial de origem renal. Desta forma, a presente investigação científica teve como objetivo, avaliar os efeitos da pressão arterial sobre a estrutura e função cardíaca de cães com LV. Para tanto, foram avaliados 43 cães com LV entre 5 e 14 Kg, estratificados pelos valores de pressão arterial sistólica (PAS) em três grupos. Dezenove (19) cães com valores de PAS até 129 mmHg formaram o G1, 12 cães com valores de PAS entre 130 e 159 mmHg formaram o G2, e 12 cães com valores de PAS acima de 160 mmHg formaram o G3. Os cães foram diagnosticados para LV por meio de punção biópsia aspirativa de linfonodo e medula óssea. Após confirmação diagnóstica, foram submetidos a exames laboratoriais, físicos, radiográficos de tórax, eletrocardiográficos, ecodopplercardiográficos, mensuração da PAS, determinação das concentrações séricas da aldosterona, troponina I, desidrogenase láctica 1 (LDH₁), creatina quinase fração MB (CK-MB), e renina plasmática, relação proteína creatinina urinária (UP/C), e avaliação histopatológica do miocárdio. Os cães do G3 apresentaram hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, aumento nos parâmetros de disfunção diastólica relativos à índice de Tei e índice de relaxamento isovolumétrico, além de aumento significativo das concentrações da aldosterona, Renina, CKMB e Troponina I. Quanto à avaliação da função renal os cães do G3 apresentaram aumento das concentrações séricas de cálcio, fósforo, magnésio, Ureia, aumento da excreção fracionada de sódio e do UP/C. Os resultados são indicativos de que os cães com LV e hipertensão arterial deste estudo desenvolveram alterações na função e estrutura cardíaca, respectivamente disfunção diastólica e hipertrofia concêntrica em decorrência da doença renal.

Palavras-chave: doença renal, coração, eletrólitos, excreção fracionada.

HYPERTENSIVE CARDIOMYOPATHY IN DOGS WITH VISCERAL LEISHMANIASIS

ABSTRACT: Visceral leishmaniasis (VL) is a multisystem disease. In dogs with VL, few studies mention the pathophysiological mechanisms leading to hypertension frames, and are not well clarified the consequences of systemic hypertension on myocardial function in dogs affected by the disease. However, it is known that one of the major organs to be affected are the kidneys, and when compromised, are developed pathophysiological mechanisms that lead to conditions of hypertension from renal origin. Thus, the present research aimed to assess the effects of systolic blood pressure on the cardiac structure and function of dogs with VL. Therefore, we studied 43 dogs with VL and stratified by the values of systolic blood pressure (SBP) in three groups. 19 dogs with SBP to 129 mmHg shaped the G1, 12 dogs with SBP between 130 and 159 mmHg shaped the G2, and 12 with SBP above 160 mmHg shaped the G3. The dogs were diagnosed for LV by aspiration biopsy of lymph node and bone marrow. After confirming the diagnosis, underwent laboratory exams, physical, chest radiographic , electrocardiographic, Doppler echocardiographic measurement of SBP, determination of serum aldosterone, troponin I, lactate dehydrogenase 1 (LDH1), creatine kinase MB fraction (CK-MB) and plasma renin, urinary creatinine ratio protein (UP / C), and histopathological evaluations of myocardium. G3 Dogs showed concentric left ventricular hypertrophy, increase in parameters of diastolic dysfunction on the Tei index and index of isovolumetric relaxation, and significant increase of concentrations of aldosterone, renin, CKMB and Troponin I. As for the evaluation of renal function G3 dogs showed increased of serum concentrations of calcium, phosphorus, magnesium, urea, and increased fractional excretion of sodium and UP / C. The results indicate that dogs with VL and hypertension from this study developed changes in cardiac function and structure, respectively diastolic dysfunction and concentric hypertrophy due to kidney disease

Keywords: kidney disease, heart, electrolytes, fractional excretion.

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é considerada um importante fator de morbidade e mortalidade cardiovascular. A longo prazo, a hipertensão arterial induz à remodelação cardíaca, que resulta na deterioração progressiva da capacidade funcional do coração e no consequente desenvolvimento da insuficiência cardíaca e morte súbita. Em cães com LV, poucos estudos descrevem a presença da HAS e a literatura é extremamente escassa no que diz respeito à origem e de seus efeitos. Entretanto, sabe-se que cães com LV apresentam com frequência, comprometimento da função renal, quadro caracterizado principalmente por lesões de tipo glomerular, o que resulta em hiperfiltração glomerular e aumento da pressão arterial de origem renal. Embora não seja bem esclarecido o comprometimento do sistema cardiovascular, alguns relatos de casos descrevem o comprometimento do coração de cães infectados com LV. É descrito que no miocárdio, as lesões macroscópicas nem sempre estão evidentes, requerendo a análise histopatológica para evidenciá-las. As alterações histopatológicas compreendem a presença de infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocitário, necrose de cardiomiócitos e aumento do colágeno intersticial. Contudo, são desconhecidos os mecanismos fisiopatológicos que levam ao comprometimento deste sistema. É conhecido que as doenças infecciosas que comprometem o sistema cardiovascular caracterizam-se pela presença de lesões miocárdicas primárias, que produzem alterações na estrutura e função cardíaca, o que pode levar a presença de arritmias fatais, cardiomegalia e insuficiência cardíaca congestiva. No entanto, pelo comprometimento renal de cães com LV, podem surgir quadros de hipertensão arterial. A literatura científica descreve como os principais responsáveis pelo surgimento da hipertensão arterial ao sistema neuro-hormonal e ao sistema renal. Sabe-se que o sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) e a retenção renal de sódio, têm sido considerados como um dos mecanismos mais importantes implicados na elevação da pressão arterial em pacientes com doença renal. A sobrecarga de pressão imposta pela HAS pode ser refletida no aumento da pressão intramural do miocárdio, e consequentemente hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A Leishmaniose visceral (LV) foi descrita por primeira vez na Grécia, no ano de 1835, na época era conhecida como "*ponos*" ou "*hapoplinakon*". Anos mais tarde, na Índia, em 1869 recebeu o nome "*kala-jwar*" ou "*kala-azar*", que significa pele negra, em virtude do discreto aumento da pigmentação da pele, descrito em pacientes humanos (MARZOCHI et al., 1981; MAGALHAES, 2009).

Também na Índia, Cunningham em 1885, observou os parasitas que provocavam a LV em pacientes humanos infectados. William Leishman, em 1900, identificou um protozoário no baço de um soldado que morreu em decorrência de febre. Mas as anotações só foram publicadas por Charles Donovan em 1903, quando encontrou o mesmo parasita em outro paciente humano. Laveran & Mesnil em 1903, descreveram o protozoário com o nome de *Piroplasma donovani*. Leonard Rogers em 1904, foi o primeiro a cultivá-lo observando-o na forma flagelada. Em 1907, Patton observou "leishmânias" (formas amastigotas) em monócitos e "leptomonas" (formas promastigotas) no trato gastrointestinal de insetos que transmitiam a doença à pacientes humanos infectados com LV (FAUST et al., 1974; MAGALHAES, 2009)

Alencar et al. (1978) relataram o primeiro caso de LV na América do Sul num paciente imigrante italiano que vivera muitos anos no estado de São Paulo, entretanto, a enfermidade só foi diagnosticada no Paraguai. Os estudos sobre a distribuição geográfica da LV na América do Sul iniciaram com Penna (1934), comprovando parasitologicamente, 41 casos dentre 40.000 viscerotomias examinadas para febre amarela, provenientes de vários estados do Brasil; (MAGALHAES, 2009).

Atualmente, a LV é considerada endêmica e aflige populações dos cinco continentes, sendo 88 países localizados em regiões tropicais e subtropicais. (DESJEUX, 2004). Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde, a prevalência mundial das diferentes formas clínicas da enfermidade ultrapassa 12 milhões de casos, sendo o Brasil responsável por 90% dos casos de leishmaniose visceral humana no continente americano (MELO 2004).

O primeiro caso autóctone de leishmaniose visceral canina no estado de São Paulo foi diagnosticado em maio de 1998, no município de Araçatuba. A partir de

então, o número de animais acometidos pela doença na região vem aumentando consideravelmente. De acordo com os dados da Direção Regional de Saúde, 41 municípios já apresentam a enfermidade, que está se difundindo para outras regiões do Estado, inclusive com casos autóctones identificados na região metropolitana da cidade de São Paulo desde o ano de 2005 (MESTRE & FONTES, 2007).

A LV é considerada uma zoonose emergente no mundo, afetando uma ampla variedade de vertebrados, dentre estes os homem e os cães, os quais constituem o reservatório mais importante no ambiente doméstico (KONTOS & KOUTINAS 1993; COSTA et al., 1999; REICHMANN, 2006).

O agente causal da leishmaniose é um protozoário pleomórfico pertencente à família Trypanosomatidae de gênero *Leishmania*, sendo reconhecidas três espécies distintas de *Leishmania* envolvidas na ocorrência da LV ou Calazar: *Leishmania donnovani*, *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi* (SANTA ROSA et al., 1997).

A LV possui duas formas em seu ciclo de infecção, a forma flagelada ou promastigota que se desenvolve no tubo digestório de um inseto vetor, e a forma aflagelada ou amastigota que vive e se multiplica no interior de células do sistema mononuclear fagocitário de um hospedeiro vertebrado (SLAPPENDEL; FERRER, 1998; MAURÍCIO et al., 1999; JERONIMO et al., 2005).

Reconhecem-se três modelos clássicos da LV, sendo a primeira uma antroponose chamada de LV Indiana, ou Calazar Indiano e as outras duas são zoonoses, que correspondem a LV Mediterrânea, ou Calazar Mediterrâneo ou Infantil e a LV Americana, ou Calazar Americano. Estas duas últimas diferem significativamente quanto à epidemiologia como: incidência em seres humanos e em cães; faixa etária dos seres humanos acometidos; e manifestações clínicas da enfermidade (SANTA ROSA et al., 1997)

A doença é transmitida pela picada de um flebotomíneo, cuja espécie de maior importância nas Américas é a *Lutzomyia longipalpis*, conhecida popularmente no Brasil como mosquito-palha, birigui ou tatuquira (ROSA 2011).

Sabe-se que a LV acomete mamíferos, mas se atribui principalmente ao cão, além de roedores domésticos e canídeos silvestres como a maior fonte de infecção. Outros meios de transmissão como a transfusão de sangue parece não ter importância epidemiológica (POCAI et al., 1998).

Dentre os fatores relacionados à importância do cão na transmissão da doença, destacam-se a distribuição cosmopolita e seu papel nos grupos sociais, pelo contato próximo com o homem (COSTA et al., 1999; PRATA et al., 2005).

O período de incubação da LV é bastante variável, e o início da doença costuma ser insidioso e difícil de determinar. Tem sido descrito que o aparecimento dos sinais clínicos após período de incubação varia de 1 a 22 meses no cão e de 2 a 6 meses no homem. Entretanto, os sinais clínicos da leishmaniose visceral canina variam em resposta do sistema imune do hospedeiro ante a presença do parasita. (POCAI et al., 1998; PALTRINIERI et al., 2010)

Genaro (1993) menciona que a evolução da LV é geralmente crônica, no entanto, dependendo das propriedades do parasita e da imunocompetência do hospedeiro, a enfermidade pode se apresentar assintomática, cursar com quadros crônicos, ou agudos que levam o animal ao óbito em poucas semanas.

A LV é considerada uma doença multissistêmica com manifestação de sinais iniciais inesperados e inespecíficos, o que com frequência dificulta seu diagnóstico. Entretanto, animais infectados apresentam sinais de emagrecimento progressivo, atrofia muscular, lesões cutâneas, poliúria, alterações digestórias, locomotoras e neurológicas. Também é frequentemente relatada, a presença de lesões renais, oftálmicas, assim como a anemia, linfadenomegalia e hepatoesplenomegalia (FEITOSA et al., 2000; BANETH et al., 2008; MELO et al., 2009; BANETH & SOLANO - GALLEG0 2012).

O conhecimento da fisiopatologia da LV é fundamental para seu diagnóstico. Dentre as condições clínicas destaca-se a anemia nos cães infectados, que ocorre por perda de sangue pela epistaxe, pela lise de hemácias ou, mais frequentemente, por diminuição da eritropoiese em decorrência da hipoplasia ou aplasia medular, e pela instauração da IRC e a diminuição na produção de eritropoietina (CHAPAM & HANSON 1984; MACDOUGALL, 2001; JÜTTNER., et al., 2001; FEITOSA, 2006)

Emaciação, perda de peso, diarreia e vômito, geralmente indica envolvimento visceral. A presença de linfadenomegalia e hepatoesplenomegalia, em parte, pode ser atribuída à reação inflamatória por causa da leishmania e pela proliferação de linfócitos B, plasmócitos, histiócitos e de macrófagos em tais órgãos (ACHA & SZYFRES 1986; POCAI, et al., 1998; FEITOSA, 2006). A LV pode produzir quadros

de hepatite, por ocasiões com hepatomegalia e sinais de enfermidade hepática. As lesões no fígado podem ser atribuídas à presença das leishmanias e multiplicação dos macrófagos. Alguns animais apresentam diarreia crônica e melena devido à presença de ulcerações da mucosa gástrica e intestinal, como resultado da mesma lesão hepática, por lesão parasitária direta ou em consequência da insuficiência renal (CIARAMELLA & CORONA, 2003; FEITOSA, 2006)

Lesões de pele são frequentes em cães com LV. Descreve-se excessiva descamação da epiderme na região periocular, na borda dos pavilhões auriculares ou mesmo difusa atingindo varias áreas da pele nos cães. Os animais podem apresentar pelame seco, queda de pêlos e áreas de alopecia, hiperqueratose, liqueinificação e úlceras cutâneas, principalmente em locais de contato com superfícies e correspondentes a saliências ósseas. As lesões são decorrentes da multiplicação das formas amastigotas na epiderme ou à vasculite necrotizante causada por deposição de imunocomplexos. (ACHA & SZYFRES 1986; POCAI et al., 1998; CIARAMELLA & CORONA 2003; FEITOSA, 2006).

Observa-se também em cães acometidos pela LV atrofia muscular, inicialmente nos músculos das fossas temporais, e posteriormente expandindo-se por toda a musculatura do corpo (CIARAMELLA & CORONA 2003; FEITOSA, 2006; ALBUQUERQUE, 2006).

Relatos de pneumonia intersticial, com diáteses hemorrágicas, como epistaxe, petéquias e sufusões se evidenciam nos cães infectados com LV. A epistaxe seguramente decorre de ulcerações e vasculite na cavidade nasal (ACHA & SZYFRES 1986; POCAI et al., 1998; CIARAMELLA & CORONA 2003; FEITOSA, 2006).

Quadros de blefarite são associados à dermatite facial, ceratoconjuntivite bilateral, uveíte bilateral, edema de córnea ou à formação de sinéquia, devido à presença da LV ou como consequência de deposição de imunocomplexos na íris e no corpo ciliar, têm sido descritos (BRITO et al., 2004).

Depósitos de antígenos de *Leishmania* e de imunoglobulinas no plexo coróide, levando a uma coroidite, além de alterações histológicas no cérebro e cerebelo, por deposição de substância amilóide e degeneração neuronal, já foram relatados em cães acometidos pela doença. Dentre as alterações neurológicas

observadas em cães com leishmaniose visceral destacam-se tetraparesia, convulsões, mioclonias, andar em círculos, nistagmo, tremor de intenção, alterações em nervos cranianos caracterizados por estrabismo, paralisia de mandíbula e ptose labial. Tais alterações são decorrentes, tanto da deposição de imunocomplexos quanto de infecções oportunistas no sistema nervoso central (FEITOSA et al., 2005; MELO et al., 2012).

A imunossupressão causada pela LV pode predispor a infecções oportunistas bacterianas ou fúngicas, sendo destacadas as cistites, as pneumonias bacterianas, as piodermites, a malassezíase, as dermatofitoses e a demodicose. Entretanto, infecções combinadas por *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* e *Dirofilaria immitis* são comuns se a infecção por LV ocorre em regiões onde esses organismos também são endêmicos (CIARAMELLA & CORONA 2003; FEITOSA, 2006).

Alguns estudos descrevem o comprometimento cardíaco em seres humanos e em cães com LV (TORRENT et al., 2005; ZABALA et al., 2005; FERRARI et al., 2006; PUERTO-ALONSO et al., 2006; LÓPEZ-PEÑA et al., 2009; SILVA et al., 2009; ROSA, 2012).

Blavier et al. (2001) descreveram que nos cães são poucos os relatos de comprometimento cardíaco consequente à LV. Um caso de pericardite difusa, onde foram identificadas formas amastigotas do parasita na efusão pericárdica; duas descrições da presença de granulomas ventriculares em decorrência do parasitismo, e dois casos de tromboembolismo em cães com doença glomerular, sendo um com insuficiência renal.

Estudos anatomopatológicos do miocárdio de pacientes com LV descreveram a presença de edema e infiltração focal de células inflamatórias, esteatose do endotélio de vasos de pequeno e médio calibre, degeneração albuminóide e esteatose de fibras miocárdicas, e eventualmente observação de parasitos no interior de histiócitos, células endoteliais e leucócitos nos infiltrados. Apesar desses achados, existem dúvidas quanto à etiopatogenia das lesões. Isto é, se estas representam uma reatividade inespecífica do miocárdio, ou se podem ser decorrentes de uma miocardite especificamente por leishmaniose visceral (DE MORAIS, et al., 1988; YAZDI & NARMANI, 2003; PUERTO-ALONSO et al., 2006).

Outros relatos de comprometimento miocárdico em cães com LV incluem a descrição de um paciente de três anos de idade que apresentava evidências radiográficas de cardiomegalia moderada, bloqueio átrio-ventricular de primeiro grau e infradesnível do segmento ST, achados evidenciados no exame eletrocardiográfico, além da presença de pequenas áreas hemorrágicas e pálidas verificadas por avaliação macroscópica do epicárdio, também alterações histopatológicas compatíveis com miocardite severa, caracterizada por intensa infiltração inflamatória mononuclear, poliarterite necrotizante, hemorragias focais. Foi observada também uma miocardite não supurativa acentuada principalmente no átrio direito (TORRENT et al., 2005).

Ferrari et al. (2006), realizando exames *post mortem* em cães com LV, identificaram um animal com quadro de miocardite multifocal severa, caracterizada por reação inflamatória linfohistioplasmocitária, acompanhada de degeneração e necrose das fibras miocárdicas. Nos locais de lesão miocárdica, os autores verificaram imunomarcagem antigênica para formas amastigotas de *Leishmania* sp, confirmando o envolvimento do protozoário como agente causal da miocardite. No miocárdio, as lesões macroscópicas nem sempre são evidentes, requerendo a análise histopatológica, que pode revelar, uma miocardite severa associada à vasculite e ao infarto (LUVIZOTTO, 2006).

O comprometimento da função renal é uma consequência comum da LV, tanto no homem quanto no cão (COSTA, 2003). As lesões nos rins não se devem à presença do parasita, mas são decorrentes da deposição de imunocomplexos circulantes que se depositam na membrana basal glomerular. As glomerulopatias resultam em falência renal que é apontada como a causa principal de morte em cães com LV, mesmo os que foram submetidos a tratamento específico (LUVIZOTTO, 2006).

Entretanto, em estudo desenvolvido por Leite (2012) foi descrito que a presença de formas amastigotas de LV no tecido renal, estava associada à maior prevalência e intensidade das lesões glomerulares, sendo que 92 % dos cães deste estudo tinham lesão renal, mas as lesões mais severas se correlacionaram com a presença do parasita.

Se houver deposição de imunocomplexos nos rins, desenvolve-se um quadro de glomerulonefrite proliferativa associada a uma nefrite intersticial, o que pode levar à insuficiência renal. Esta é a principal causa de morte em cães acometidos pela doença (KOUTINAS et al., 1999; NOLI, 1999, FEITOSA, 2006).

Cerca de 50% dos seres humanos com LV apresentam albuminúria, evidenciando a grande frequência de ocorrência de comprometimento renal nesses pacientes. Em casos mais avançados esses indivíduos apresentam elevação significativa das concentrações séricas de uréia e creatinina (MICHALICK & GENARO, 2007).

Alterações histopatológicas observadas nos rins, tanto de seres humanos quanto de cães com LV, são semelhantes. No entanto, sua patogênese não está ainda totalmente elucidada. Existem evidências crescentes de que a resposta imune celular esteja envolvida na patogênese da glomerulonefrite. Estudos têm demonstrado a presença principalmente de células T CD4+ e em menor intensidade, de células T CD8+. Também tem sido relatado o encontro de antígenos de *Leishmania* sp. nos glomérulos e no interstício renal de cães naturalmente infectados (COSTA, et al., 2000; COSTA et al., 2003; SOARES, 2003).

Dentre as alterações histopatológicas identificam-se quadros de glomerulonefrite, alterações intersticiais e tubulares. Destacam-se a glomeruloesclerose segmentar focal ou total, a glomerulonefrite mesangioproliferativa decorrente da deposição de imunocomplexos, complemento e fibrinogênio na matriz mesangial e a glomerulonefrite membrano-proliferativa (COSTA et al., 2003; SOARES, 2003).

Braga (2012) observou em cães com LV, que 97 % destes animais apresentavam algum tipo de alteração histopatológica no tecido renal, sendo que os cães do grupo 1 com alteração nos parâmetros de função renal, apresentaram 100% de alteração no tecido renal, e 96,5% de cães do grupo 2 conformado por animais sem alteração nos parâmetros de função renal, também apresentaram algum tipo de alteração histopatológica no tecido renal. Foram observadas alterações glomerulares em 97%, intersticiais em 70,6% e tubulares em 39,7%, dos animais com LV desse estudo.

Nas doenças glomerulares a intensidade da proteinúria é modificada tanto pela existência como pelo estadiamento da doença renal crônica (DRC). A proteinúria persistente de origem renal é um importante marcador de enfermidade renal crônica em cães e gatos (MARTINEZ & CARVALHO 2010).

As doenças glomerulares levam ao comprometimento da função túbulo-intersticial, resultando frequentemente em insuficiência renal crônica. Cães com DRC apresentam comprometimento das cargas filtradas, compensado pelo aumento das cargas excretadas (MARTINEZ & CARVALHO 2010).

Cães com glomerulopatias podem apresentar de forma moderada à severa, proteinúria sem a instauração da azotemia, mas com a progressão da doença glomerular, lesões tubulointersticiais, azotemia, desequilíbrio hidroeletrólítico e finalmente estágios finais de insuficiência renal crônica surgem com frequência (CORTADELLAS et al., 2008; MARTINEZ & CARVALHO 2010).

Cortadellas et al. (2006) avaliaram a prevalência e as consequências clínicas da hipertensão arterial sistêmica em 105 cães com LV e analisaram a prevalência de HA, evidenciando que 61,5% destes cães apresentavam doença renal crônica de origem glomerular e valores superiores de pressão arterial a 170 mmHg. Concluindo que o aumento da pressão arterial acontece em cães com doença glomerular secundária à LV, mesmo nos estágios iniciais da doença. Outrossim, as consequências pelo aumento da PA são expressas no remodelamento cardíaco destes cães. Em 2008, Cortadellas et al. relataram a afecção glomerular como a principal causa de enfermidade renal crônica, estando presente em 50% dos cães infectados com LV.

Em estudo desenvolvido por Tafuri et al. (1989), foram estudados os rins de cães infectados naturalmente e experimentalmente com *Leishmania chagassi*, no intuito de conhecer a patogenia da glomerulopatia. As lesões nos rins, observadas nos dois grupos de cães foram semelhantes, observando-se alterações glomerulares principalmente decorrentes da deposição de imunocomplexos na membrana basal dos glomérulos. Font et al., (1993) relataram um caso de LV em cão com IRC associada à proteinúria e levando a um quadro de síndrome nefrótica e tromboembolismo em cães.

Existem discordâncias na literatura quanto a real incidência de HA em cães com doença renal, uma vez que os estudos revelam que de 30 a 93% dos cães com nefropatia crônica, principalmente por lesões glomerulares, apresentam HA (POLZIN et al., 2005). Por outro lado, todo animal com HA crônica apresenta distúrbio funcional renal, independente se a origem da hipertensão é renal ou não (BROWN et al, 2007).

O desenvolvimento de insuficiência renal leva, não só a complicações decorrentes do acúmulo de toxinas urêmicas e desequilíbrios hidro-eletrolíticos, como também ao comprometimento do sistema cardiovascular, agravando o quadro clínico dos pacientes. Seres humanos com doença renal crônica morrem mais comumente de complicações cardiovasculares do que de insuficiência renal. Aproximadamente 50% dos indivíduos com doença renal terminal morrem por problemas cardíacos, uma taxa de mortalidade considerada 15 a 30 vezes mais elevada do que aquela correlacionada a problemas cardíacos de uma maneira geral (SCHIFFRIN et al., 2007). Relatos descrevem que a doença cardiovascular é a principal causa de morte em pacientes com estágios finais de insuficiência renal (REIS, et al., 2002; LONDON, 2003).

Estudos ecocardiográficos têm demonstrado que cerca de 85% dos pacientes humanos submetidos à hemodiálise apresentam anormalidades na função e na estrutura ventricular esquerda. Tucker et al. (1997), avaliando 85 indivíduos com insuficiência renal demonstraram, por meio de ecocardiográfica, que a hipertrofia ventricular esquerda (HVE) é comum em pacientes com insuficiência renal, mesmo antes da indicação de diálise peritoneal e que a prevalência de HVE correlaciona-se com o grau de disfunção renal.

A disfunção renal promove ativação do SRAA, elevação do estresse oxidativo e maior liberação de citocinas inflamatórias circulantes, mecanismos patofisiológicos que exercem uma importante função na geração de distúrbios cardiovasculares (SCHIFFRIN et al., 2007).

A renina é liberada na circulação em resposta à queda da pressão na arteríola glomerular aferente, ou quando há diminuição na PA, de outra forma também é liberada como mecanismo compensatório da hiperfiltração glomerular. A liberação ocorre em resposta ao estímulo das células do aparelho justaglomerular, onde a

renina é formada e armazenada (KINCAID-SMITH, 1983; SKIDGEL et al., 1984). Por sua vez a renina atua exercendo efeitos a curto e longo prazo sobre o controle da pressão sanguínea (ROSS, 1992). O SRAA desempenha um papel fundamental na manutenção da homeostase hidroeletrolítica e no controle da PA (BOIM et al., 2000).

A ativação do SRAA possui papel fundamental no controle da taxa de filtração glomerular. O mecanismo influi diretamente sob a arteríola eferente, gerando vasoconstrição e modificações na TFG (HALL et al., 1977), outrossim, o SRAA exerce ação direta na manutenção do volume sanguíneo e do equilíbrio hidroeletrolítico (FINCO, 1995).

Em vista da preservação dos nefrons remanescentes, a ativação crônica do SRAA também desencadeará hipertensão capilar glomerular e aumento da permeabilidade seletiva dos poros do glomérulo resultando em perda de proteína pela urina (SCOTT, 2008).

Segundo Galvão (2011), a hipertensão arterial sistêmica contribui significativamente para a morbidade cardiovascular e mortalidade dos pacientes renais crônicos, e a mesma está relacionada diretamente com a ativação do SRAA e a peroxidação lipídica.

A retenção renal do sódio e a ativação do SRAA têm sido consideradas como os mecanismos mais importantes envolvidos na elevação da PA em nefropatas, no entanto, o sistema nervoso simpático (SNS) também exerce influências na elevação da PA. A participação do SNS demonstrou ser mais complexa do que se pensava com a recente descoberta da renalase, enzima reguladora da função cardiovascular e da PA produzida pelos rins. A renalase metaboliza catecolaminas, tais como a dopamina, a epinefrina e a norepinefrina. Em contraste com outras oxidases, ela é secretada no plasma e urina de pacientes saudáveis, não sendo detectável em indivíduos urêmicos (SCHIFFRIN et al., 2007).

As consequências clínicas da HA dependem tanto da gravidade, quanto da duração da mesma. A elevação da PA perpetua o dano vascular, aumenta a resistência vascular periférica e renal, agravando as lesões renais, portanto levando à progressão da insuficiência renal (SCHIFFRIN et al., 2007).

A hipertrofia do ventrículo esquerdo tem sido relatada como a mais frequente alteração cardíaca em pacientes com HAS em estágios finais de doença renal

terminal, entretanto, são descritas discrepâncias no que corresponde ao nível da PA e a severidade da HVE (LONDON et al, 1991; HARNETT et al, 1994).

Comprovou-se alto risco de alteração cardiovascular e mortalidade em estágios iniciais de insuficiência renal crônica, risco muito mais evidente em pacientes jovens. Esse risco está relacionado com o efeito crescente de múltiplos fatores, dentre os quais se destacam a sobrecarga hemodinâmica e metabólica, conjuntamente com anormalidades endócrinas relacionadas ou não com a uremia (REIS et al., 2002; LONDON, 2003)

Em estudo desenvolvido por London et al. (1996), em pacientes humanos em estágios finais de doença renal, verificou-se, que a distensibilidade das artérias diminui com o incremento da PA, e que existe uma correlação positiva entre a distensibilidade arterial e hipertrofia da parede das artérias principais. Em 61.4 % dos pacientes estudados observou-se aumento da espessura da parede do VE.

Watanabe et al. (1993) verificaram que a diminuição da distensibilidade arterial diminui o fluxo e a perfusão coronariana, aumentando as ondas de pulsos das artérias carótídeas e femorais em cães.

Paulino (2010) observou em cães com IRC a presença de hipertrofia concêntrica do VE com dilatação do átrio esquerdo, ativação do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) e aumento nas concentrações séricas de troponina I e CK-MB.

Em estudo desenvolvido por Braga (2012), a prevalência de hipertensão arterial em cães com LV foi de 8,8%, De 100% dos cães hipertensos, 83,3% destes animais apresentaram valores de UP/C > 0,5. Segundo Grauer (2011), valores de UP/C >0,3 indicam o comprometimento da função glomerular.

A HAS é geralmente assintomática no início do seu desenvolvimento, podendo causar danos miocárdicos importantes, antes que seu diagnóstico seja estabelecido. No entanto, a avaliação de alguns marcadores bioquímicos pode ser útil no estabelecimento de um diagnóstico precoce. Um ventrículo hipertrofiado apresenta maior risco de desenvolvimento de isquemia por diminuição do fluxo sanguíneo coronariano. Em função da isquemia, ocorre liberação de enzimas, tais como a creatina quinase fração MB (CK-MB), a troponina I e a desidrogenase láctica 1 (LDH1). Estas atingem a circulação e suas concentrações séricas podem servir

como indicadores de lesão miocárdica, auxiliando no diagnóstico e no prognóstico da doença (SCHOBER, 2005).

A troponina cardíaca (Tc) é composta por três subunidades, sendo elas: troponina cardíaca I (TcI), troponina cardíaca T (TcT), e troponina cardíaca C (TcC), que ajudam a regular excitação-contração e acoplamento das proteínas do sarcômero. A TcI é o componente inibitório da interação entre a actina e a miosina até a entrada do cálcio no interior da célula cardíaca, onde começa a agir a TcC. A TcI normalmente é ligada ao filamento da actina através da TcT, mas em resposta a uma lesão sarcomérica, é libertada para o espaço extracelular e citosol (OYAMA & SISSON 2004). Linde et al. (2006) descreveram que a TcI localiza-se exclusivamente no miocárdio, onde é a única forma existente, e sua sensibilidade e especificidade para o infarto agudo do miocárdio são de 95 e 97%, respectivamente.

O uso da determinação das troponinas cardíacas como marcadores de alta especificidade para a lesão do miocárdio tem sido estabelecido em diversas espécies, sendo incluídos os cães e os seres humanos (RALLI et al, 2005).

Outro marcador de lesão cardíaca importante é a creatinafosfoquinase fração MB (CK-MB). Schober (2005) enfatizou que esta enzima é menos específica que a troponina, contudo, seus valores séricos são importantes para o acompanhamento de doença cardíaca ou tratamento de afecções do coração.

Shell et al. (1973) estudaram um grupo de cães como modelo experimental visando simular o infarto do miocárdio por oclusão das artérias coronárias. Observaram que o tamanho do infarto pode ser previsto a partir de mudanças nas concentrações séricas de CK-MB. Os autores citaram que as áreas de isquemia detectadas por lesão do miocárdio podem ser determinadas pela depleção da CK-MB e alterações no eletrocardiograma, especificamente no segmento ST.

De forma semelhante, Sharkey et al. (1989) gerando lesões agudas de cinco horas e crônicas de três semanas, após oclusão tanto da artéria coronária descendente anterior esquerda, como da artéria coronária direita em cães, com intenção de monitorizar alterações da enzima CK-MB ao longo do tempo, observaram nas lesões agudas, aumento de três vezes das concentrações da enzima e de até quatro vezes nas crônicas.

Souza et al., (2008) estudando cães com cardiopatia chagásica, encontraram valores elevados das enzimas CK e CK-MB, e alterações cardiovasculares nos exames eletrocardiográficos e ecocardiográficos, sugerindo assim, a presença de lesão miocárdica persistente. Por sua vez, Paulino (2010) estudando a cardiomiopatia hipertrófica hipertensiva em cães com doença renal observaram valores superiores de CK-MB, porém sem diferença estatística significativa, quando comparada com cães do grupo controle.

Outro biomarcador cardíaco importante é a enzima LDH1, que catalisa a reação reversível de L-lactato para piruvato, e em condições de anaerobiose, está presente em grandes quantidades na musculatura esquelética (LASSEN, 2004). Sabe-se que é uma das principais enzimas utilizadas na avaliação das disfunções musculares (DI FILIPPO et al., 2008).

Pascon (2007), avaliando a cardiopatia chagásica crônica em cães, evidenciou que a atividade sérica da enzima LDH1, poderia sugerir lesão muscular com indícios de comprometimento do miocárdio, uma vez que os cães estudados não apresentavam alterações clínicas de acometimento muscular estriado. Por outro lado, em estudo feito em cães com LV, se mostrou o aumento da LDH em alguns indivíduos que apresentavam atrofia dos músculos mastigatórios e esqueléticos (VAMVAKIDIS et al, 2000)

Baseados nos relatos que descrevem o forte comprometimento glomerular em cães com LV, e conforme descrito, com a progressão da doença surgem quadros de HAS, é que o presente estudo objetiva analisar, ou seja, documentar os efeitos secundários da HAS no sistema cardiovascular.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LABORATÓRIOS

As atividades experimentais foram conduzidas no Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA), UNESP, Câmpus de Araçatuba e nos Laboratórios de Patologia Clínica e de Cardiologia do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV-UNESP/JABOTICABAL.

O estudo esteve de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da FCAV-UNESP/JABOTICABAL, de acordo com o Processo 011621/2010.

3.2 ANIMAIS

Para realização do estudo foram avaliados 43 cães de diversas raças com idade superior a seis meses até 5 anos de idade, independente do sexo, entre 5 e 14 kg, naturalmente acometidos por LV, encaminhados ao Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Câmpus de Araçatuba, no período de Maio de 2011 a agosto de 2011. Todos os cães eram provenientes do município de Araçatuba – SP, área endêmica para a LV e não-endêmica para Doença de Chagas (CVE, 2005; UMEZAWA et al., 2009). O diagnóstico da enfermidade foi fundamentado nos resultados do exame parasitológico direto realizado a partir de citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) de linfonodo e medula óssea.

3.3 EXAME PARASITOLÓGICO DE LINFONODO, MEDULA ÓSSEA

A CAAF realizou-se nos linfonodos submandibulares e poplíteos, as amostras foram colhidas com agulha hipodérmica 25x7mm acoplada a uma seringa de 10 mL. A colheita de medula óssea foi realizada com agulha hipodérmica 40x16 mm, acoplada à seringa de 10 mL, puncionando na crista ilíaca, com os animais contidos em decúbito lateral. Os esfregaços foram confeccionados imediatamente após a

colheita, secos ao ar, corados com corante Panótico Rápido¹ e observados ao microscópio óptico, em imersão, com objetiva de 100x.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Após a confirmação diagnóstica de LV, os animais foram submetidos a exame físico geral de acordo com Feitosa (2008), seguido de exame físico específico do sistema cardiovascular segundo Camacho e Mucha (2008), quarenta e três cães com LV foram selecionados em três grupos de acordo com o nível de pressão arterial sistólica (PAS), dezenove cães com PAS até 129 mmHg conformaram o Grupo 1 (G1), enquanto doze cães com PAS entre 130 e 159 mmHg formaram o grupo (G2) e doze cães com PAS igual ou superior à 160 mmHg considerados hipertensos conformaram o grupo 3 (G3). A determinação da PAS foi baseada no protocolo descrito por Brown et al. (2007).

3.5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os grupos de cães estudados foram alimentados com ração comercial seca super premium, na quantidade recomendada para a manutenção de cães saudáveis, e água *ad libitum*. Durante o tempo do estudo foram avaliados entre dois e quatro cães por dia, cada cão foi instalado em gaiola onde permaneceu durante 24 horas para os procedimentos descritos a seguir.

3.5.1 Determinação da pressão arterial

Após avaliação do exame clínico, procedeu-se a determinação da PAS por Doppler Vascular² seguindo as recomendações para mensuração da PA descritas por Brown, et al (2007). Os animais foram colocados em decúbito lateral esquerdo e após 10 minutos efetuaram-se seis determinações. Pressões com variações acima de 10% foram descartadas e as aferições foram realizadas sempre no membro torácico direito, na altura do carpo, previamente tricotomizados. Após aplicação do gel, o transdutor foi fixado com esparadrapo, conectando-se o manguito inflável, o

¹ ® Laborclin, SP, Brasil

² Doppler Vascular ² modelo DV-10 (Microem®)

manômetro e a bomba de insuflar. Os manguitos utilizados, tinham largura correspondente a aproximadamente 40% da circunferência do membro no local da aferição conforme descrito por Camacho e Mucha (2008).

3.5.2 Avaliação da função cardíaca

Após a determinação da PAS foram realizadas as avaliações da estrutura e da função cardíaca, conforme descrito a seguir:

3.5.2.1 Exame eletrocardiográfico

Os cães foram submetidos à avaliação eletrocardiográfica³ nas derivações bipolares I, II, III; unipolares aVR, aVL e aVF e pré-cordiais rV2, V2, V4 e V10. Os eletrocardiogramas foram analisados na derivação bipolar II (DII), na velocidade de 50 mm/segundo, calibrado para um centímetro igual a 1 mV, observando-se as características do ritmo cardíaco e os valores referentes a frequência cardíaca, duração (milissegundos-ms) e amplitude (milivolts-mV) da onda P, duração do intervalo PR e do complexo QRS, amplitude da onda R, duração do intervalo QT, características da polaridade da onda T, presença ou não de desnivelamento do segmento ST e valor em graus do eixo médio de QRS, obtido a partir das derivações I e III. As medidas eletrocardiográficas foram analisadas segundo Wolf et al. (2000) e Tilley & Burtnick (2004).

3.5.2.2 Ecodopplercardiografia

A ecodopplercardiografia foi realizada utilizando-se um ecodopplercardiógrafo⁴, com transdutor bifrequencial de 5,0–7,5MHz., sob a forma bidimensional (Modo B) e Unidimensional (Modo M). Utilizando-se as imagens ecocardiográficas obtidas no modo-M da janela paraesternal direita, entre o quarto e quinto espaços intercostais, em seu eixo transversal, no plano papilar, pós indexar a área de superfície corpórea nas variáveis ecocardiográficas dependentes do peso foram analisadas as seguintes variáveis: diâmetro interno do ventrículo esquerdo na

³ Modelo de Aquisição de ECG para computador (ECG –PC, versão Windows XP – Tecnologia Eletrônica Brasileira– TEB - Brasil).

⁴ Ecodopplercardiógrafo Esaote modelo Mylab 30

sístole e na diástole (DIVE); espessura do septo interventricular na sístole e na diástole (ESIV) e espessura da parede livre do ventrículo esquerdo na sístole e na diástole (PLVE). Foram também mensurados no mesmo plano em modo M, os índices função sistólica pertinentes a fração de encurtamento (%FEc) e a fração de ejeção (%FE); e devidamente posicionado equidistante no plano valvar mitral do ventrículo esquerdo mensurou-se a separação septal do ponto E do folheto anterior da válvula mitral (SSPE). No modo B também no eixo transversal foram mensurados os diâmetros do átrio esquerdo (AE) e da aorta (AO), a relação do diâmetro átrio esquerdo/aorta (AE/AO), e utilizando-se o recurso doppler mensurou-se o fluxo da artéria pulmonar.

Outras variáveis obtidas pela janela paraesternal esquerda no modo B, mensuradas com utilização do recurso Doppler, foram: o fluxo da artéria aorta, o fluxo das valvas mitral e tricúspide, o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV), tempo de contração isovolumétrico (TCIV) e tempo de ejeção (TE) do ventrículo esquerdo. Desses parâmetros foi calculado o índice de Tei, sendo este um índice de performance miocárdica. Foram considerados como valor final a média de três ciclos cardíacos das supracitadas aferições.

3.5.2.3 Exames radiográficos do tórax

Foram efetuados radiografias de tórax em aparelho de Raio X, ⁵com capacidade para 150 mA, equipado com grade antidifusora *Potter-bucky*. A revelação e a fixação dos filmes foram realizados por processadora automática da marca Macrotec, modelo MX-2. Foram avaliadas as dimensões cardíacas por meio de projeções realizadas nas incidências ventrodorsal (VD) e lateral direita (LD) empregando-se o método descrito por O'Brien (2003), e pelo Sistema de Escala Vertebral (VHS), de acordo com Buchanan e Bücheler (1995).

⁵ Aparelho de RX modelo CRX (SHF-730) Phillips

3.5.3 Avaliação laboratorial

Após avaliação do sistema cardiovascular, foram realizadas colheitas de amostras de sangue por venopunção jugular e de urina por cistocentese, para posteriores análises bioquímicas séricas e urinárias.

3.5.3.1 Análises bioquímicas séricas e urinárias

A concentração sérica da uréia (Sur) foi realizada, pelo método cinético da urease (kit uréia[®] Labtest Diagnóstica³). A concentração sérica da creatinina (Scr) foi determinada pela reação de Jaffé modificada - picrato alcalino (Creatinina K Ref. 96⁶), em leitura cinética de dois pontos. A concentração urinária de proteína foi determinada pelo método do vermelho pirogalol (Sensiprot³), com reação de ponto final. A quantificação do cálcio total, das amostras de soro e urina, foi obtida pela reação cromogênica com cresolftaleína complexona (Cálcio liquiform Ref. 90³). As análises quantitativas de fósforo inorgânico e magnésio sérico e urinário foram realizadas pelo método fosfomolibdato (Fósforo Ref. 42³), em reação de ponto final. As leituras das análises bioquímicas foram efetuadas em espectrofotômetro⁷. As concentrações séricas e urinárias de sódio foram determinadas pelo método de eletrodo íon-seletivo⁸.

3.5.3.2 Determinação das concentrações sanguíneas da aldosterona, renina, troponina i, desidrogenase láctica 1 (LDH1) e creatina quinase fração MB (CK-MB)

A aldosterona foi determinada com a utilização do método de radioimunoensaio de fase sólida baseado em anticorpos específicos imobilizados na parede de um tubo de polipropileno, precedido de um processo de separação por cromatografia⁹. A renina foi determinada também pelo método do radioimunoensaio, concebido para ser usado na determinação quantitativa da atividade da renina plasmática através da angiotensina I gerada, tendo finalmente os anticorpos

⁶ Produtos Labtest – Labtest Diagnóstica S.A. – Lagoa Santa, MG, Brasil.

⁷ LABQUEST – Labtest Diagnóstica S.A. – Lagoa Santa, MG, Brasil.

⁸ ISELAB – Drake – São José do Rio Preto, SP, Brasil.

⁹ Coat-A-Count Aldosterone, PITKAL[®] - 4, Los Angeles, USA.

imobilizados na parede inferior interna do tubo¹⁰. Para determinação da troponina I cardíaca, foi utilizado um teste quantitativo automatizado¹¹, por meio da técnica ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay). As concentrações séricas de LDH1 e a CK-MB foram determinadas por método cinético-UV com Kit comercial (Labtest).

3.5.4 Avaliação da proteinúria

A perda de proteína na urina foi estimada pelo cálculo da razão proteína/creatinina urinária (U-P/C).

3.5.5 Excreção fracionada de eletrólitos

Os procedimentos para mensuração das excreções fracionadas (EF) seguiram as recomendações descritas por Finco (1995). Para os cálculos da excreção fracionada de solutos utilizou-se a fórmula que se segue.

$$EFa = \frac{Ua \text{ (mEq/L)} \times Scr \text{ (mg/dl)}}{Ucr \text{ (mg/dl)} \times Sa \text{ (mEq/L)}} \times 100$$

Onde:

EFa = excreção fracionada da substância a

Ua = concentração urinária da substância a

Scr = concentração sérica de creatinina

Ucr = concentração urinária de creatinina

Sa = concentração sérica da substância a

3.5.6 Eutanásia

Após a realização de todos os exames, os animais receberam pré-anestesia com acepromazina (0,055 mg/kg/IV), seguida, 15 minutos depois, de indução e manutenção anestésica com pentobarbital sódico (15 mg/kg/IV). Com os cães

¹⁰ GammaCoat® Plasma Renin Activity I RIA Kit, Stillwater, Minnesota, USA

¹¹ VIDAS® - Troponin I Ultra – Biomeriéux

ainda em plano anestésico, foi aplicada uma ampola de cloreto de potássio a 19,1%, por via intravenosa, em cumprimento ao Decreto no. 51.838 do senado federal, de 14 de março de 1963, o qual estabelece que animais domésticos portadores de leishmaniose devam ser submetidos à eutanásia. O método de eutanásia empregado segue as recomendações da Resolução nº. 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

3.5.7 Necropsia

Após a eutanásia os cães foram necropsiados de acordo com protocolo rotineiramente empregado no Serviço de Patologia da faculdade de Medicina Veterinária – UNESP – *Campus* de Araçatuba, realizando-se o exame externo do cadáver, evisceração e exame detalhado das alterações macroscópicas presentes nos órgãos. Deu-se especial atenção às alterações macroscópicas observadas no coração dos grupos de cães com LV.

Para o exame interno do coração foi realizada uma incisão única no sentido transversal do órgão realizada aproximadamente na altura das cordoalhas tendíneas das válvulas atrioventriculares, obtendo assim o acesso ao endocárdio dos ventrículos direito e esquerdo. Foram colhidos fragmentos das seguintes regiões do coração: parede livre de ventrículo direito (VD), parede livre de ventrículo esquerdo (VE). A fim de melhor avaliar as características das fibras musculares cardíacas, todos os fragmentos coletados foram cortados de forma longitudinal e transversal ao sentido das fibras. Os fragmentos foram fixados em formol a 10% tamponado com fosfatos, pH 7,6. Após fixação durante 24 horas, os fragmentos foram desidratados em soluções de concentrações decrescentes de álcool, diafinizados em xilol e incluídos em parafina, para posterior realização das técnicas de histopatologia.

3.5.8 Exame histopatológico do coração

Cortes histológicos de miocárdio de 5µm de espessura foram corados com hematoxilina e eosina (HE) e Tricrômico de Masson (TM), e analisados em microscopia óptica com objetivas de 4x, 10x e 40x, em toda a sua extensão.

Nos cortes histológicos corados por HE, avaliaram-se os aspectos morfológicos do tecido cardíaco, dando-se atenção especial às alterações tais como

diferenças no tamanho e na forma das fibras, presença de fibras degeneradas, presença de infiltrado inflamatório e fibrose endomisial. A presença de infiltrado inflamatório, granulomas, a ocorrência de necrose de cardiomiócitos e a intensidade do aumento de fibras colágenas intersticiais foram graduados em escores que variaram de 0 a 3, sendo 0 para a ausência de lesões, 1 para a presença de lesões discretas (pequenos focos nas áreas estudadas), 2 para a presença de lesões moderadas (lesões maiores, multifocais ou focalmente extensas) e, finalmente, 3 para as lesões acentuadas (envolvendo grande parte das áreas avaliadas, muitas vezes com coalescência entre elas).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram inicialmente analisados com o teste Kolmogorov-Smirnov para determinar a normalidade. Para os dados paramétricos, procedeu-se a análise de variância (Anova), seguida do pós-teste de Tukey; os dados não-paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn para comparações múltiplas. Duas provas não paramétricas foram utilizadas para analisar os parâmetros referentes à avaliação histopatológica. O teste de Wilcoxon foi empregado para comparar a mediana dos escores em cada grupo, confrontando-se cada parâmetro estudado, individualmente, com a mediana hipotética zero, que indicaria ausência de inflamação, necrose ou granuloma. Na sequência, procedeu-se o teste de Kruskal-Wallis, para comparar os resultados obtidos nos três grupos para cada um dos parâmetros estudados. Para todos os testes considerou-se o valor de P inferior a 0,05 como estatisticamente significativo. Todas as análises foram realizadas empregando-se o programa "Graphpad Prism version 5.02 for Windows", Graphpad Software, San Diego, Califórnia, EUA.

4. RESULTADOS

Foram avaliados 43 cães acometidos por LV, com diagnóstico firmado pela presença de formas amastigotas de *Leishmania* sp. em citologia obtida por punção biópsia aspirativa de linfonodo e/ou medula óssea (Figura 1).

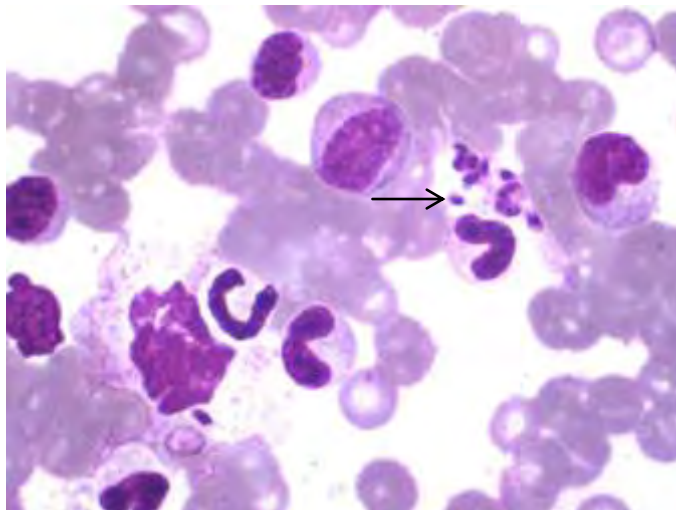


Figura 1 - Fotomicrografia de exame parasitológico direto por citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) de medula óssea de cão proveniente de área endêmica para leishmaniose visceral, evidenciando a presença de *Leishmania* SP. (seta). Panótico Rápido®. Obj. 100x. (Araçatuba-SP, 2013)

Os resultados referentes ao peso dos grupos de cães com LV estudados quando comparados, não apresentaram diferenças estatísticas (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores médios e desvios padrão relativos ao peso, de cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Média ± DP			P (Kruskal-Wallis)
	G1	G2	G3	
Peso (Kg)	10,2±5,4	9,7±7,1	6,7±2,9	0,32

*P significativo < 0,05. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias.

Os parâmetros eletrocardiográficos referentes à onda P (ms) apresentaram diferença significativa quando comparados os cães com LV do G1 com os do G2 e G3. Em relação ao parâmetro intervalo PR (ms) foram encontradas diferenças significativas para os grupos de cães com LV do G1 e do G2 em comparação ao G3. À onda P em mV, complexo QRS, onda Q mV, onda R mV, intervalo QT, eixo cardíaco (Eixo) e FC em bpm dos grupos de cães com LV, não apresentaram diferenças significativas quando comparados entre si (Tabela 2, Figura 2).

Tabela 2 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros eletrocardiográficos referentes à onda P, intervalo PR, complexo QRS, onda Q, onda R, intervalo QT, eixo cardíaco e FC, de cães com LV dos grupos G1, G2 e G3, UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Média $\pm$ DP			P*
	G1	G2	G3	
P (ms)	43,13 $\pm$ 6,81 ^A	48,73 $\pm$ 5,38 ^B	47,89 $\pm$ 4,98 ^{AB}	0,0339
P (mV)	0,16 $\pm$ 0,05	0,17 $\pm$ 0,062	0,18 $\pm$ 0,078	0,8863
PR(ms)	85,19 $\pm$ 10,99 ^A	84,27 $\pm$ 9,08 ^A	105,30 $\pm$ 26,26 ^B	0,0071
QRS(ms)	51,63 $\pm$ 6,14	54,45 $\pm$ 2,87	56,00 $\pm$ 5,36	0,0861
Q (mV)	0,14 $\pm$ 0,17	0,19 $\pm$ 0,21	0,18 $\pm$ 0,17	0,6142
R (mV)	0,89 $\pm$ 0,35	0,85 $\pm$ 0,35	0,83 $\pm$ 0,46	0,6115
QT(ms)	190,2 $\pm$ 33,43	201,3 $\pm$ 13,69	207,3 $\pm$ 20,65	0,4304
Eixo(graus)	68,63 $\pm$ 17,35	67,82 $\pm$ 43,59	66,67 $\pm$ 29,14	0,8499
FC(bpm)	121,4 $\pm$ 26,79	130,0 $\pm$ 31,62	126,7 $\pm$ 25,98	0,7437

*P significativo < 0,05. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias.

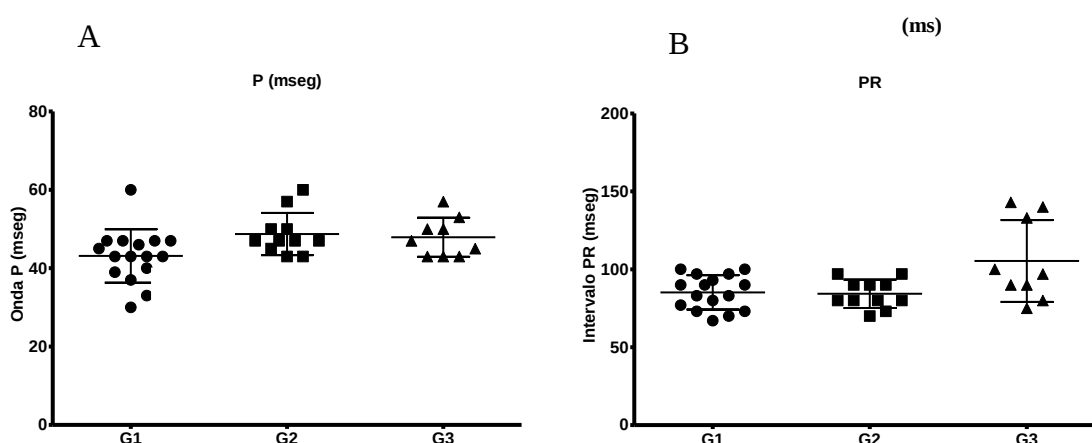


Figura 2 – Representações gráficas das médias e respectivos desvios padrão das análises estatísticas de parâmetros dos grupos de cães com LV, G1, G2 e G3. Parâmetros: A. Onda P em (ms) e B. intervalo PR (ms). UNESP - Jaboticabal, 2013.

Os parâmetros ecocardiográficos referentes à SIVd, PLVE, FEC, SIV%, MVE, após indexar a área de superfície corpórea nas variáveis ecocardiográficas dependentes do peso, mostraram diferenças significativas quando comparados os cães com LV do G1 e G2 com o G3. A FEJ mostrou ser estatisticamente diferente para os cães do G1 em comparação ao G2 e ao G3. (Tabela 3 e Figura 3). As avaliações do modo Unidimensional, modo M, estão apresentadas na Figura 4.

Tabela 3 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros ecocardiográficos indexados por área de superfície corpórea referentes ao DIVDd, SIVd, DIVEd, PLVEd, SIVs, DIVEs, PLVEs, FEJ, FEC, SIV%, PLVE%, MVE, de cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Média $\pm$ DP			P*
	G1	G2	G3	
DIVDd indexado	1,35 $\pm$ 0,94	1,18 $\pm$ 0,94	2,60 $\pm$ 2,72	0,4102
SIVd indexado	1,76 $\pm$ 0,88 ^A	1,60 $\pm$ 0,73 ^A	3,18 $\pm$ 1,74 ^B	0,0059
DIVEd indexado	6,18 $\pm$ 3,27	5,53 $\pm$ 2,25	5,81 $\pm$ 2,22	0,7832
PLVEd indexado	1,74 $\pm$ 1,08 ^A	1,66 $\pm$ 0,63 ^A	2,87 $\pm$ 1,09 ^B	0,0108
SIVs indexado	2,26 $\pm$ 1,03	2,04 $\pm$ 0,85	3,82 $\pm$ 2,38	0,0818
DIVEs indexado	4,55 $\pm$ 2,58	3,46 $\pm$ 1,24	4,03 $\pm$ 1,64	0,4055
PLVEs indexado	2,40 $\pm$ 1,24	2,31 $\pm$ 0,89	2,40 $\pm$ 1,24	0,1713
FEJ	66,50 $\pm$ 9,32 ^A	77,64 $\pm$ 7,48 ^B	76,89 $\pm$ 5,84 ^B	0,0014
FEC	39,06 $\pm$ 8,77 ^A	45,18 $\pm$ 7,15 ^A	56,67 $\pm$ 10,15 ^B	0,0001
SIV%	34,69 $\pm$ 17,94 ^A	24,20 $\pm$ 14,67 ^A	64,22 $\pm$ 16,65 ^B	<0,0001
PLVE%	38,50 $\pm$ 17,49	47,80 $\pm$ 23,25	54,00 $\pm$ 14,51	0,1539
MVE indexado	89,65 $\pm$ 68,91 ^A	51,96 $\pm$ 22,49 ^A	227,1 $\pm$ 87,96 ^B	<0,0001

*P significativo < 0,05. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias.

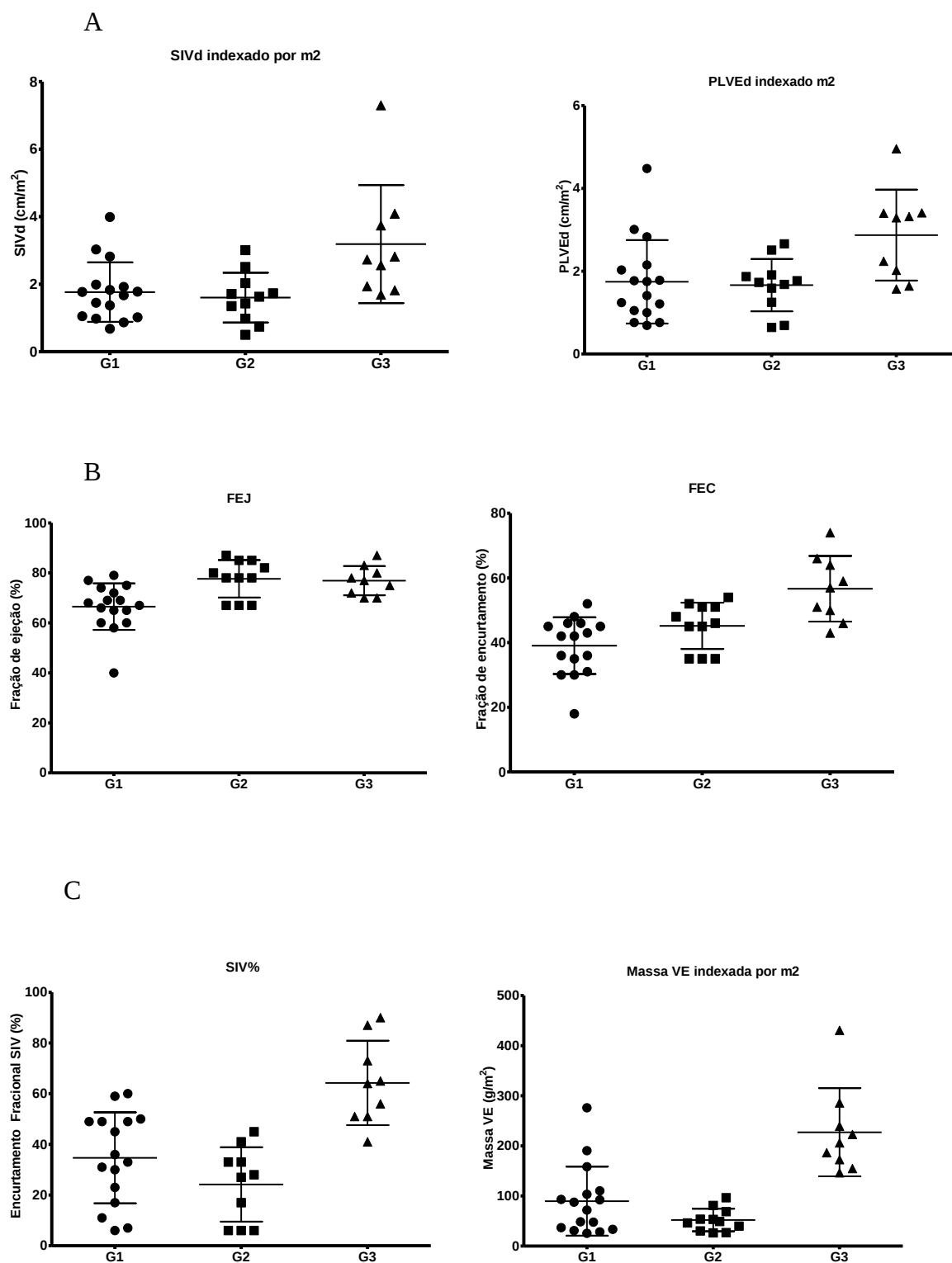


Figura 3 – Representações gráficas das médias e respectivo erros padrão das análises estatísticas de parâmetros ecocardiográficos indexados por área de superfície corpórea dos grupos de cães G1, G2 e G3. Parâmetros: A: SIVd, PLVEd. B: FEJ, FEC. C: SIV%, MVE. UNESP - Jaboticabal, 2013.

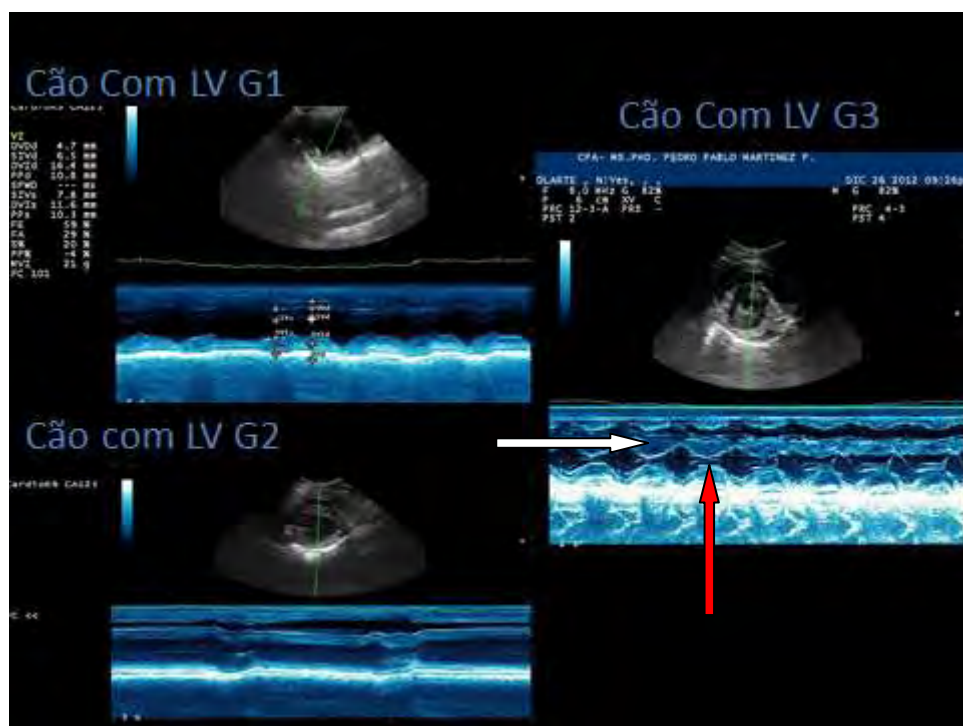


Figura 4 - Imagens ecocardiográficas em modo-B e modo-M, no eixo transversal, plano cordal, em cães com LV. (A) Cão com LV do G1. (B) Cão com LV do G2. (C) Cão com LV do G3. Evidencia-se aumento de SIV (seta branca) e hiperkinesia do VE (seta vermelha inferior) no cão com LV do G3. UNESP, Jaboticabal – SP, 2013.

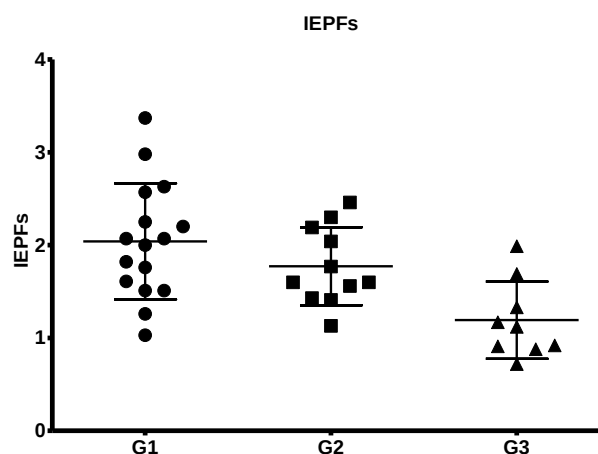
Os parâmetros ecocardiográficos referentes a IEPFs, IEPFd mostraram diferenças significativas maiores, quando comparados os grupos de cães com LV do G1 com o G2 e respectivamente com o G3. (Tabela 4 e Figura 5).

Tabela 4 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros ecocardiográficos referentes IEPFs, IEPFd, de cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Média + DP			P*
	G1	G2	G3	
IEPFs	2,04A $\pm$ 0,62	1,77AB $\pm$ 0,41	1,19B $\pm$ 0,41	0,0019
IEPFd	3,60A $\pm$ 0,88	3,75A $\pm$ 1,32,	1,97B $\pm$ 0,48	<0,0001

*P significativo < 0,05. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias.

A



B

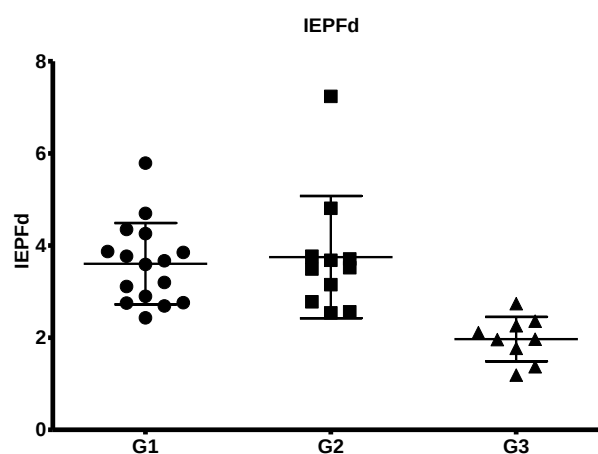


Figura 5 – Representações gráficas das médias e respectivos erros padrão das análises estatísticas de parâmetros ecocardiográficos dos grupos de cães com LV do G1, G2 e G3. Parâmetros: A: IEPFs. B: IEPFd- Jaboticabal, 2013.

Os valores médios e desvios-padrão relativos às variáveis ecodopplercardiográficas: AE/AO, FVI mitral, E mitral, A mitral, E/A mitral, aceleração E mitral, desaceleração E mitral, FVI tricúspide, E tricúspide, A tricúspide, E/A tricúspide, não apresentaram diferenças estatísticas quando comparados os grupos de cães com LV estudados (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores médios e desvios padrão dos parâmetros relativos à AE/AO FVI mitral, E mitral, A mitral, E/A mitral, aceleração E mitral, desaceleração E mitral, FVI tricúspide, E tricúspide, A tricúspide, E/A tricúspide, em cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Média ± DP			P*
	G1	G2	G3	
AE/Ao	1,10±0,18	1,14±0,40	1,05±0,32	0,7941
FVI mitral	0,11±0,04	0,10±0,02	0,10±0,03	0,4497
E mitral	0,69±0,12	0,77±0,13	0,67±0,09	0,1096
A mitral	0,45±0,11	0,46±0,09	0,50±0,14	0,4312
E/A mitral	1,58±0,37	1,71±0,39	1,42±0,48	0,1842
Aceleração E mitral	82,38±23,36	73,09±35,08	65,78±19,45	0,3223
Desaceleração E mitral	124,9±43,93	106,7±42,83	92,89±38,27	0,1896
FVI tricúspide	0,12±0,04	0,11±0,03	0,09±0,02	0,2083
E tricúspide	0,57±0,14	0,63±0,15	0,58±0,08	0,4602
A tricúspide	0,45±0,13	0,55±0,14	0,43±0,08	0,0705
E/A tricúspide	1,31±0,30	1,22±0,32	1,38±0,28	0,4611

*P significativo < 0,05. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias.

Os valores médios e desvios-padrão relativos as variáveis ecodopplercardiográficas: TEI, TRIV e FVI aorta, mostraram diferenças estatisticamente significativas quando comparados os grupos de cães com LV. Entretanto, os parâmetros TCIV, Pico Vel aorta, Aceleração Fluxo aórtico, Tempo de Ejeção VE, FVI pulmonar, Pico Vel pulmonar, não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos de cães com LV (Tabela 6 e Figura 6).

Tabela 6 - Valores médios e desvios padrão relativos à TEI, TCIV, TRIV, FVI aorta, Pico Vel aorta, Aceleração Fluxo aórtico, Tempo de Ejeção VE, FVI pulmonar, Pico Vel pulmonar, em cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Média ± DP			P*
	G1	G2	G3	
TEI	0,97±0,14 ^A	1,08±0,20 ^{AB}	1,49±0,28 ^B	<0.0001
TCIV	64,88±22,42	63,45±16,58	64,11±16,24	0,9186
TRIV	54,63±7,82 ^A	63,36±14,74 ^A	77,78±13,88 ^B	0,0002
FVI aorta	0,10±0,03 ^{AB}	0,11±0,021 ^A	0,08±0,017 ^B	0,0361
Pico Vel aorta	0,95±0,25	1,03±0,20	0,89±0,17	0,3386
Aceleração Fluxo aórtico	59,63±21,31	65,45±30,48	44,78±16,25	0,1494
Tempo de Ejeção VE	180,9±45,18	197,3±21,56	169,1±25,48	0,2076
FVI pulmonar	0,11±0,030	0,12±0,016	0,09±0,018	0,0569
Pico Vel pulmonar	0,92±0,13	0,92±0,16	0,83±0,18	0,3280

* Valor de P significativo < 0,05. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias.

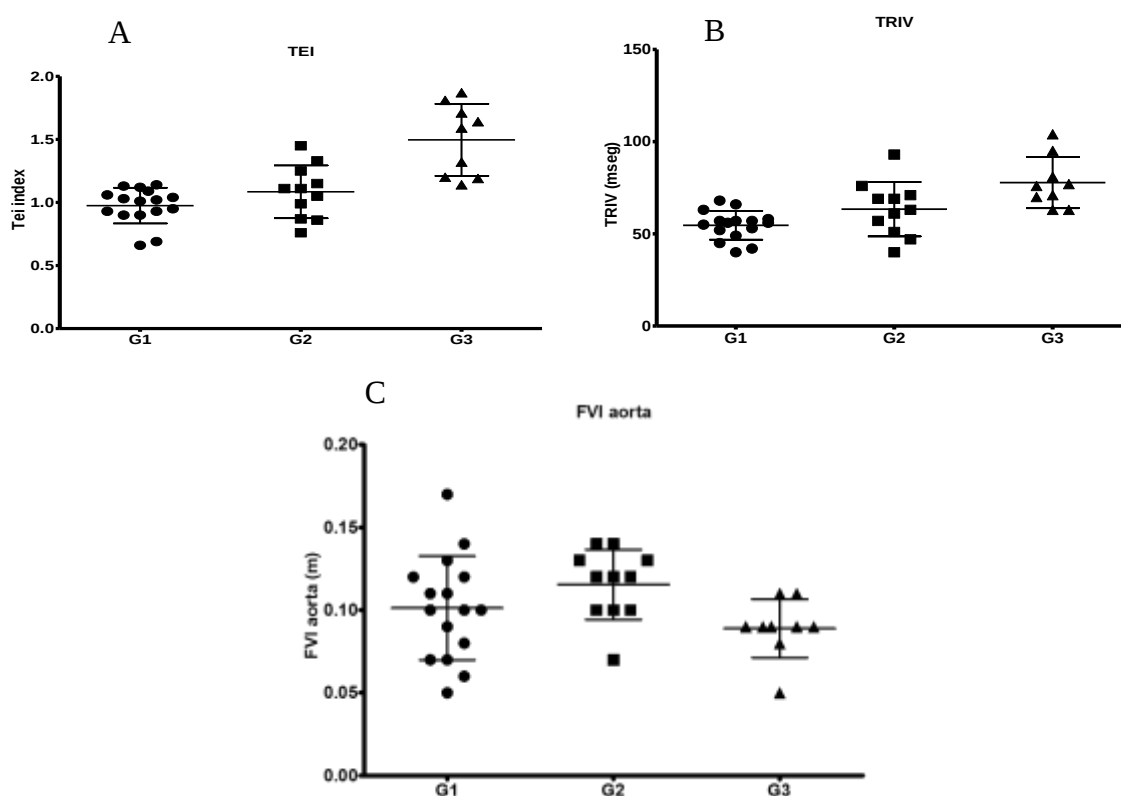


Figura 6 – Representações gráficas das médias e respectivos erros padrão das análises estatísticas relativas à: A: TEI, B: TRIV e C: FVI de cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

As médias dos parâmetros radiográficos referentes ao sistema de escala vertebral (VHS), de cães dos grupos G1, G2 e G3 não apresentaram diferenças significativas entre si. É importante ressaltar que nenhum dos cães apresentou comprometimento moderado ou severo do padrão pulmonar (Tabela 7).

Tabela 7 - Valores médios e desvios padrão relativos ao parâmetro radiográfico de escala vertebral (VHS) de cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Média ± DP			P (Anova)
	G1	G2	G3	
VHS	9,51±0,51	9,62±0,66	9,61±0,37	0,8372

*P significativo < 0,05. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias.

A determinação das concentrações séricas da aldosterona, troponina I, creatina quinase fração MB (CK-MB) e a concentração plasmática da renina apresentaram comportamento similar entre os três grupos, mostrando-se significativamente maior para cães do G3, em comparação aos cães do G1 e do G2. No entanto, a desidrogenase láctica 1 (LDH) não apresentou diferenças estatísticas quando comparadas entre os grupos de cães com LV estudados. (Tabela 8 e Figura 7).

Tabela 8 - Valores médios e desvios padrão relativos aos biomarcadores: CK-MB, LDH, Renina, Aldosterona, cTnI de cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Média ± DP			P*
	G1	G2	G3	
CKMB (U/L)	9,99 ^{AB} ±15,96	3,24±6,60 ^A	43,75 ⁺ 68,92B	0,0101
LDH (U/L)	73,38±44,26	139,7±132,0	143,3±130,9	0,1287
Renina (ng/mL)	0,21 ^A ±0,076	0,22 ^{AB} ±0,071	0,311 ^B ±0,08	0,0198
Aldosterona (pg/mL)	16,91 ^A ±19,07	26,95 ^{AB} ±28,49	75,39 ^B ±76,07	0,0259
cTnI (ng/mL)	0,02 ^A ±0,04	0,04 ^{AB} ±0,04	0,15 ^B ±0,21	0,0026

*P significativo < 0,05. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias.

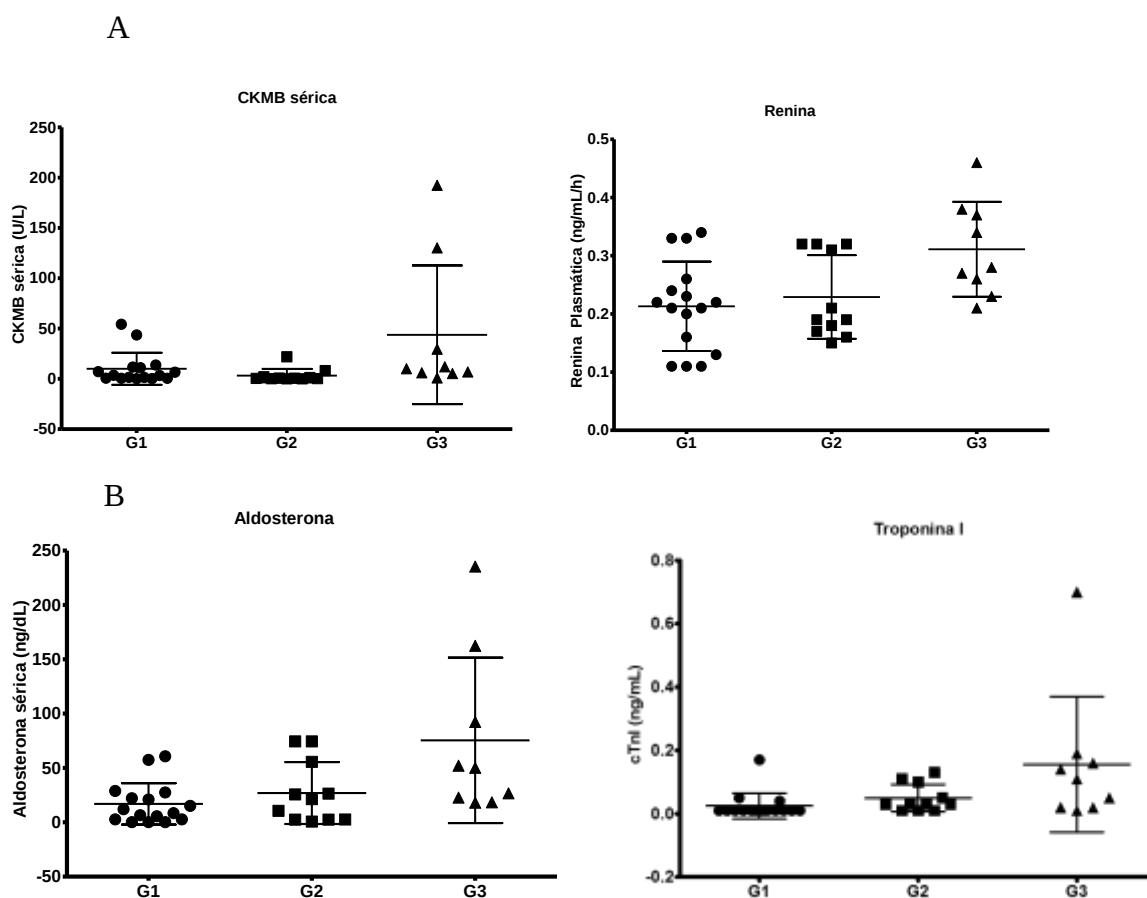


Figura 7 – Representações gráficas das médias e respectivos erros padrão dos biomarcadores relativos à: A. CK-MB e Renina. B. Aldosterona, e Troponina I, em cães com LV dos grupos G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

A alteração macroscópica observada mais importante foi hipertrofia do VE seguido do aumento do AD, em cães do com LV do G3 deste estudo (Figura 8).

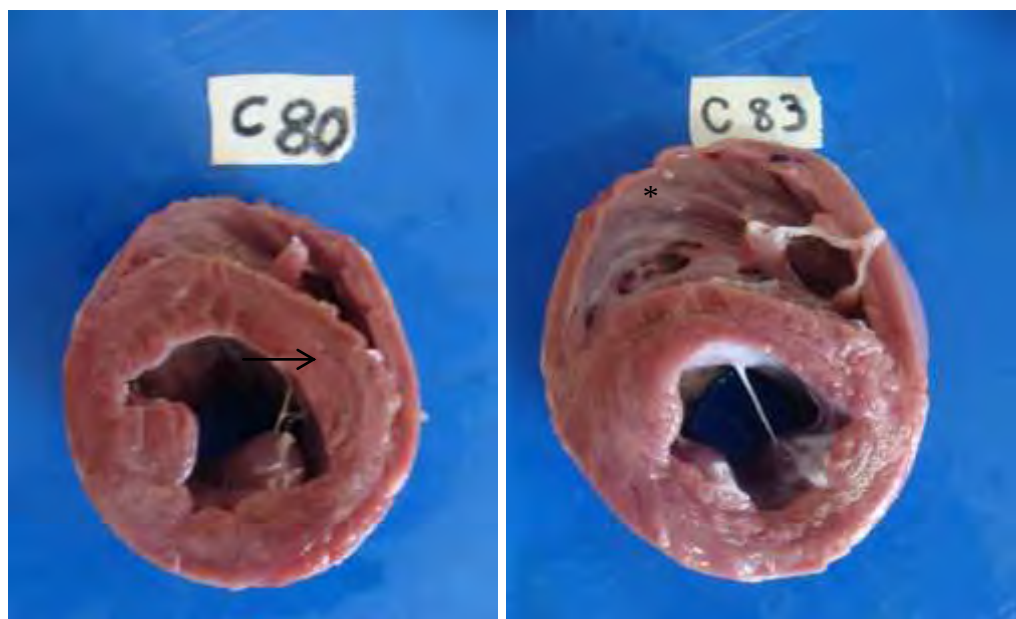


Figura 8 – Miocárdio de dois cães com LV do G3 mostrando a hipertrofia do VE (*) e dilatação do AD (—>)Obj. 100x. (Araçatuba-SP, 2013)

No estudo histopatológico do ventrículo esquerdo e ventrículo direito, não houve diferença estatística entre as medias dos grupos de cães estudados para os parâmetros de inflamação, granuloma e necrose. No entanto, quando estes parâmetros comparados individualmente dentre cada grupo, apresentaram diferenças significativas para o parâmetro inflamação, mostrando diferenças para cães do G2 na avaliação do VE, e para os cães do G2 e G3 na avaliação do VD. Para o parâmetro necrose, os cães do G1 mostraram ser diferentes no VE, assim como no G1 e G2 no ventrículo direito (Tabela 9).

Tabela 9 - Valores médios e desvios padrão relativos à parâmetros histopatológicos: infiltrado inflamatório (Inflamação) do ventrículo esquerdo e ventrículo direito (VE e VD), granuloma do VE e VD e necrose do VE e VD de cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Tecido	Grupo	P ¹ (Wilcoxon)	Mediana	P ² (Kruskal-Wallis)
Inflamação	VE	G1	0,07	0	0,2442
		G2	0,02	1	
		G3	0,08	0	
	VD	G1	0,006	0,5	0,1668
		G2	0,02	1	
		G3	0,02	1	
Granuloma	VE	G1	0,34	0	0,4886
		G2	0,17	0	
		G3	1,00	0	
	VD	G1	0,34	0	0,8841
		G2	0,34	0	
		G3	1,00	0	
Necrose	VE	G1	0,01	0	0,5532
		G2	0,14	0	
		G3	0,14	0	
	VD	G1	0,01	0,5	0,6261
		G2	0,01	1	
		G3	0,05	1	

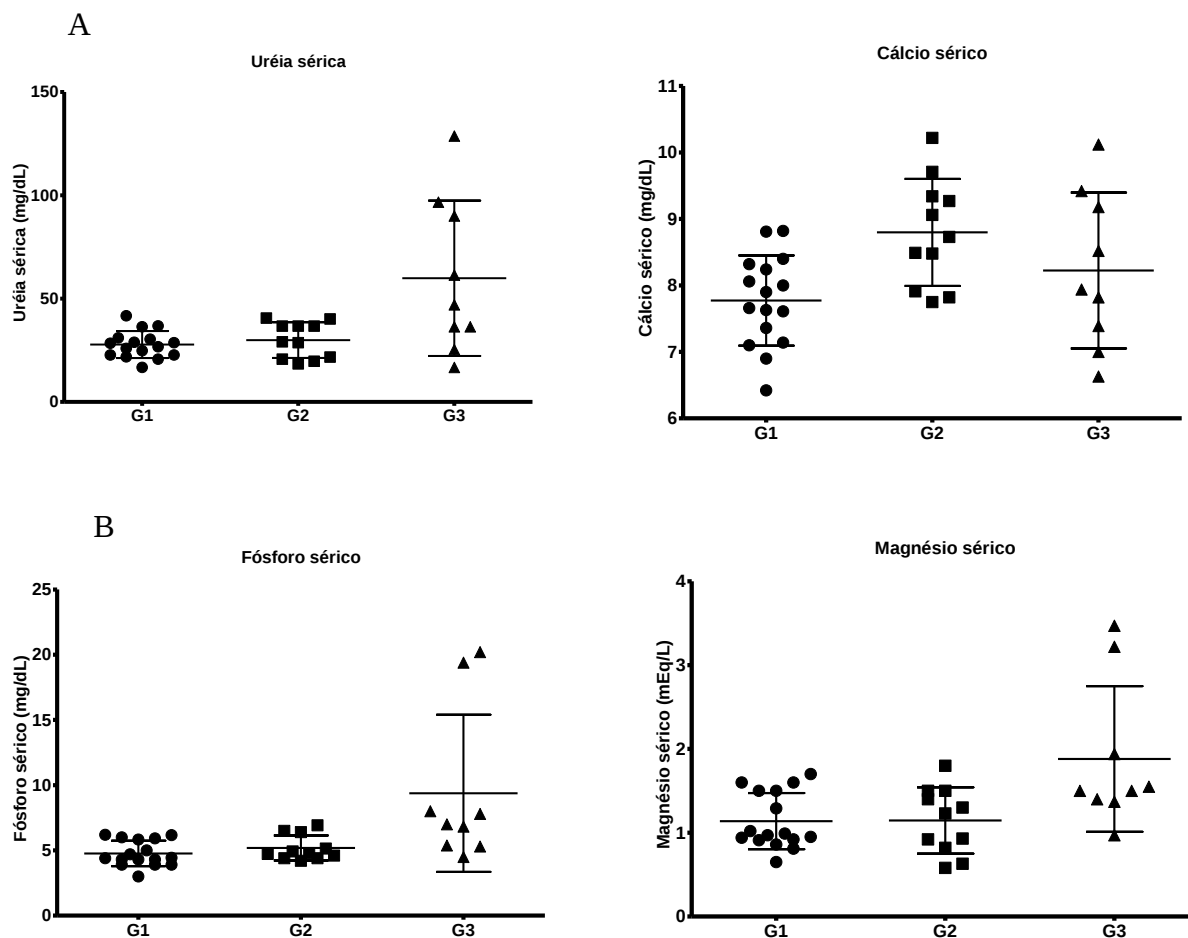
P^{1,2} significativo < 0,05.

A avaliação da função renal apresentou diferenças significativamente maiores nos parâmetros Uréia sérica, Cálcio sérico, Fósforo sérico, Magnésio sérico, UPC e EF sódio para cães do G3 quando comparados com cães do G1 e do G2. A Creatinina sérica, Sódio sérico, Cálcio urinário, Fósforo urinário, Magnésio urinário, Sódio urinário, EF cálcio, EF fósforo, EF magnésio, não apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas entre os grupos (Tabela 10 e figura 9).

Tabela 10 - Médias, desvio padrão e dados estatísticos de parâmetros da função renal relativos à: Creatinina sérica(mg/dl), Uréia sérica(mg/dl), Cálcio sérico(mg/dl), Fósforo sérico(mg/dl), Magnésio sérico(mg/dl), Sódio sérico(mEq/L), UPC, EF sódio(%), EF cálcio(%), EF fósforo(%), EF magnésio(%), em cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

Parâmetro	Média $\pm$ DP			P*
	G1	G2	G3	
Creatinina sérica(mg/dl)	0,79 $\pm$ 0,24	0,76 $\pm$ 0,19	1,63 $\pm$ 1,31	0,1303
Uréia sérica(mg/dl)	27,77 $\pm$ 6,54 ^A	29,92 $\pm$ 8,65 ^A	59,86 $\pm$ 37,62 ^B	0,0010
Cálcio sérico(mg/dl)	7,77 $\pm$ 0,67 ^A	8,79 $\pm$ 0,80 ^B	8,22 $\pm$ 1,17 ^{AB}	0,0168
Fósforo sérico(mg/dl)	4,76 $\pm$ 0,97 ^A	5,18 $\pm$ 0,95 ^{AB}	9,37 $\pm$ 6,02 ^B	0,0024
Magnésio sérico(mg/dl)	1,13 $\pm$ 0,33 ^A	1,14 $\pm$ 0,39 ^A	1,88 $\pm$ 0,86 ^B	0,0261
Sódio sérico(mEq/L)	134,4 $\pm$ 12,67	140,3 $\pm$ 8,08	143,4 $\pm$ 14,10	0,1748
UPC	0,52 $\pm$ 0,40 ^A	0,82 $\pm$ 0,59 ^{AB}	1,93 $\pm$ 1,38 ^{AB}	0,0095
EF sódio(%)	0,97 $\pm$ 0,70 ^A	1,05 $\pm$ 0,73 ^{AB}	2,19 $\pm$ 1,29 ^B	0,0307
EF cálcio(%)	0,51 $\pm$ 0,42	0,76 $\pm$ 0,84	1,46 $\pm$ 2,23	0,2468
EF fósforo(%)	20,13 $\pm$ 15,27	15,42 $\pm$ 9,10	18,53 $\pm$ 8,97	0,6865
EF magnésio(%)	10,54 $\pm$ 7,87	10,86 $\pm$ 6,30	20,08 $\pm$ 18,66	0,1061

*P significativo < 0,05. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias.



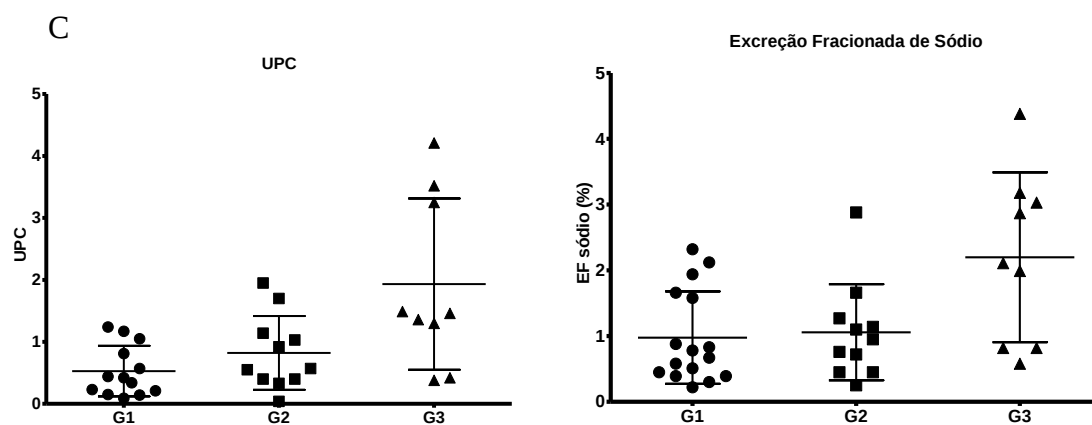


Figura 9 – Representações gráficas das médias e respectivos erro padrão de parâmetros da função renal relativos à: A: Uréia sérica e Cálcio sérico, B: Fósforo sérico e Magnésio sérico, C: UPC, EF sódio, em cães com LV do G1, G2 e G3. UNESP - Jaboticabal, 2013.

5. DISCUSSÃO

A prevalência de hipertensão arterial nos cães nefropatas com LV estudados foi de 27,9% (12/43), sugerindo uma relação entre o aumento da PAS e a doença renal.

Assim, (BRAGA 2012) em uma população de 68 cães com LV, observou prevalência de hipertensão arterial sistêmica de 8,8% (6/68), correlacionando o aumento da PA com achados histopatológicos decorrentes de lesões glomerulares.

Por sua vez, Cortadellas et al. (2006), em uma população de 105 cães com LV, evidenciaram que 61,5% destes cães eram hipertensos e apresentavam afeção de origem glomerular. Posteriormente, Cortadellas et al. (2008) observaram em 26 cães com LV a presença de HAS em 34,7% destes animais. Em ambos os estudos, foi atribuído o aumento da PA ao comprometimento da função glomerular. O aumento da pressão arterial em cães com doença renal crônica, também foi descrito por Mc Carthy (1991), Paulino (2010) e Brown et al. (2007).

A HAS é um potente fator de risco para a doença cardiovascular na doença renal crônica, seu aumento se evidencia com frequência em pacientes com insuficiência renal (NELSON & COUTO 2001, STEPIEN 2002, NEUMANN et al. 2004, SCHIFFRIN et al., 2007, PAULINO, 2010).

Na presente investigação, avaliação eletrocardiográfica computadorizada demonstrou aumento da duração da onda P e do intervalo PR nos cães com LV do G3. O aumento da duração da onda P pode ser atribuído à sobrecarga de pressão imposta pelo VE e consequente hipertrofia concêntrica do VE (KNIGHT & CHEN 1989; TILLEY & BURTNICK 2004). Resultados similares em cães com insuficiência renal crônica e cardiomiopatia hipertensiva foram encontrados por Paulino (2010).

O aumento do intervalo PR observado em cães do G3 poderia decorrer do próprio aumento da duração da onda P, assim como ser um mecanismo compensatório que permite o retardo dos ventrículos ao serem preenchidos de sangue antes da contração ventricular (TILLEY & BURTNICK 2004).

O remodelamento cardíaco decorrente da sobrecarga de pressão poderia se manifestar nos aumento da amplitude da onda P e do intervalo PR como evidenciado neste estudo. Embora os cães do G3 manifestaram aumento destes dois parâmetros eletrocardiográficos, as alterações foram insuficientes para

comprometer o ritmo e a frequência cardíaca nos cães, sendo arritmia sinusal respiratória o ritmo eletrocardiográfico predominante.

Durante avaliação ecodopplercardiográfica, as variáveis SIVd, PLVEd, FEJ, FEC, SIV%, MVE mostraram aumento significativo para cães com LV do G3. Estes achados estão relacionados às alterações hemodinâmicas decorrentes da sobrecarga de pressão imposta pela HAS. Estes resultados foram descritos também em cães com insuficiência renal crônica e cardiomiopatia hipertensiva por Paulino (2010), relatando-se hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, caracterizada pelo aumento significativo das variáveis septo interventricular, parede livre do ventrículo esquerdo, tanto em sístole quanto em diástole, e pelo aumento da massa ventricular esquerda, atribuindo ao remodelamento cardíaco assim como nesta pesquisa, as alterações hemodinâmicas compensatórias pelo estado hipertensivo, como aumento na resistência vascular periférica (pós-carga), taquicardia mediada pelo sistema nervoso simpático, estímulo inotrópico e aumento da volemia (pré-carga) pela ativação do SRAA.

Em 2010, Paulino evidenciou em cães com doença renal crônica o aumento significativo nas variáveis ecocardiográficas referentes à FEC e FEJ. Justificando que os cães com DRC utilizam mecanismos compensatórios fisiológicos para tentar manter a homeostasia, aumentando assim a pré e pós-carga e por consequência alterando os valores de FEC e FEJ. O autor também descreve espessamentos do septo interventricular e da parede livre do ventrículo esquerdo assim como evidenciado nesta pesquisa.

Resultados similares aos encontrados na pesquisa em tela foram evidenciados em cães hipertensos com LV por Cortadellas et al. (2006), descrevendo também o aumento das variáveis SIVd e PLVEd, caracterizando a hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, mas sem alteração hemodinâmica como observado no presente estudo.

O aumento da MVE, também foi encontrado por Bovée (1989), atribuindo estes achados à hipertensão arterial sistêmica. A presença de hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo tanto em cães como em gatos com HAS foi similarmente descrita por Stepien (2009).

Achados semelhantes em seres humanos com doença renal crônica foram observados por vários autores, e sugerem que o aumento da PA afeta diretamente o coração, uma vez que a sobrecarga de pressão resulta em hipertrofia do ventrículo esquerdo e na redução da densidade capilar coronariana, provocando disfunção ventricular. A hipertrofia do ventrículo esquerdo é uma resposta adaptativa consequente ao aumento da pós-carga imposto pela sobrecarga de pressão. (LOCATELLI 2001; MACIEL 2001; LONDON, 2003; SCHIFFRIN et al. 2007).

Os resultados relativos à hipertrofia cardíaca evidenciados em cães do grupo G3, poderiam ser explicados pelos relatos descritos por Maciel 2001, London, 2003 e Schiffrin et al., 2007. Descrevendo que em pacientes humanos com insuficiência renal crônica, no início a hipertrofia ventricular é vantajosa, porque distribui a tensão para um número maior de sarcômeros, reduzindo a carga de cada uma das fibras musculares individuais, regulando a eficiência cardíaca, o consumo de oxigênio, e também aumentando a capacidade de trabalho do ventrículo esquerdo, o qual permite a manutenção da função sistólica durante a fase de compensação e pré-adaptação hipertrófica. Mas a sobrecarga de pressão sustentada leva progressivamente a uma resposta hipertrófica adaptativa caracterizada pelo aparecimento de efeitos adversos, e consequentemente cardiomiopatia hipertrófica por sobrecarga de pressão. Nesta fase, as células miocárdicas sobrecarregadas e ativas, apresentam uma maior taxa de gasto energético e um desequilíbrio entre o gasto energético e a produção de energia, levando a déficit crônico de energia e morte dos miócitos.

Os índices cardíacos IEPFs e IEPFd são indicadores respectivamente de pós-carga e pré-carga. Estes índices se mostraram com valores significativamente menores nos cães com LV do grupo G3. Resultados similares para estes índices foram encontrados em cães com doença renal crônica por Paulino (2010). Segundo Borgarelli (2007), o aumento no diâmetro interno do ventrículo esquerdo aumenta o stress da espessura de parede como acontece na endocardiose da válvula mitral, enquanto que uma diminuição deste diâmetro diminui o stress da parede, conforme evidenciado neste estudo. Neste estudo, o autor relata que o aumento nos parâmetros ecocardiográficos relativos a FEC e volume sistólico final do VE são

alterações esperadas e decorrentes da hipertrofia concêntrica, o qual também foi também evidenciado em cães do G3 deste estudo.

Em relação especificamente ao stress parietal, Carabello (1995) argumentou que o stress diastólico final da parede do VE aumenta em cães com sobrecarga de volume com falha cardíaca congestiva moderada ou crônica, portanto, tendo os cães deste estudo sobrecarga de pressão decorrente da HSA, é esperado que a diminuição do estresse da parede aconteça pela diminuição do diâmetro interno do VE.

Quanto às variáveis ecodopplercardiográficas dos fluxos transmitral e tricúspide, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos de cães com LV estudados. Desta forma, os resultados obtidos nesta pesquisa diferem dos encontrados por De Freitas et al. (2005), que observaram em pacientes com hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, disfunção diastólica do tipo I ou anormal, com relação E/A menor que um.

Durante a pesquisa de Paulino (2010), verificou-se em cães com cardiomiopatia hipertensiva e insuficiência renal valores de normalidade para os parâmetros PVOE e PVOA, com relação E/A normal, assim como observado nos grupos de cães com LV estudados. Por sua vez, Pereira (2009), após avaliar os picos de velocidade de enchimento ventricular da onda E e da onda A, dos fluxos mitral e tricúspide, observou ausência de variação significativa entre os grupos de cães obesos, também com relação E/A normal.

Neste estudo, pode-se sugerir que os picos de velocidade para a onda E e para onda A, assim como sua relação, poderiam variar segundo ao grau de hipertrofia e à pressão intraventricular, esta por sua vez deve ser mantida por mecanismos compensatórios para assegurar a homeostase com finalidade de compensar a pressão exercida pela resistência vascular. Entretanto, para estes parâmetros, foram observados valores de normalidade nos grupos de cães com LV (BOON, 1998). Segundo Pereira (2009), estes índices diastólicos não se modificam em função da frequência cardíaca ou peso corporal.

Segundo os estudos de Paulino (2010), a diminuição significativa do tempo de desaceleração da onda E em cães com doença renal crônica, sustenta-se ao prolongamento da taxa de esvaziamento atrial, o que pode significar minimização da

complacência ventricular ou restrição ao enchimento ventricular (KITTLESON; KIENLE, 1998). Os resultados da presente pesquisa indicam diminuição do tempo de desaceleração da onda E para cães com LV do G3, porém sem diferença significativa entre os grupos. O tempo de desaceleração da onda E, corresponde à um índice de função diastólica que representa as taxas de esvaziamento atrial e enchimento ventricular esquerdos. Segundo Boon, (1998) quando o tempo de desaceleração da onda E mitral se prolonga, sua velocidade diminui e quando o tempo de desaceleração da onda E mitral se torna mais vertical, sua velocidade aumenta.

Embora sem diferença significativa, a média do Tempo de Ejeção do VE mostrou-se diminuída nos cães com LV do grupo G3. Resultados similares foram encontrados por Paulino (2010), diferindo este parâmetro significativamente menor em cães com doença renal crônica quando comparados com o grupo controle. O autor atribui este resultado à ativação dos mecanismos compensatórios, pelo aumento da FC e diminuição do tempo de diástole, ainda que cães deste estudo apresentaram valores de FC entre os parâmetros de normalidade e sem diferenças entre os grupos (KITTLESON & KIENLE, 1998; PAULINO 2010)

Estes resultados também foram evidenciados por Sousa (2004) e Pereira (2009), argumentando, como também na nossa pesquisa, que a diminuição nas variáveis DIVEs e DIVEd, estão relacionadas com a diminuição do lúmen ventricular, portanto serão menores o volume admissível e o volume de sangue ejetado pelo VE. Michard et al., (2003) citaram aumento do Índice Volumétrico do Ventrículo Esquerdo ao Final da Diástole, sendo este um parâmetro para avaliar a pré-carga em decorrência da sobrecarga de volume.

Os resultados na presente pesquisa revelaram valores significativamente aumentados, indicando a presença de hipertrofia concêntrica, portanto diminuição do diâmetro interno do ventrículo esquerdo (BOON, 1998).

As variáveis ecodopplercardiográficas relativas ao índice TEI e ao TRIV diferiram significativamente para os cães com LV do grupo G3. Resultados similares foram encontrados por Akintunde et al. (2011), mostrando-se o índice de Tei significativamente maior entre seres humanos hipertensos com hipertrofia

concêntrica, remodelação geométrica e hipertrofia excêntrica em comparação com pacientes hipertensos com geometria cardíaca normal.

Resultados similares em pacientes humanos com cardiopatia hipertensiva foram descritos por Kang et al. (1998), descrevendo que o índice de Tei pode ser um indicador precoce de remodelamento cardíaco em pacientes hipertensos ainda com função sistólica preservada.

Observações similares em pacientes humanos com cardiomiopatia hipertrófica também foram descritos por Marin et al. (1998), sendo o índice de Tei o parâmetro mais sensível para detectar alterações da função cardíaca em pacientes com cardiopatia isquêmica. Burgess & Ray (1998) também relataram aumento no índice de Tei em pacientes com infarto do miocárdio complicado, sendo o índice de Tei o preditor mais específico de morte cardiovascular.

O aumento do TRIV em animais do grupo G3 é descrito como um indicador de função diastólica e seu aumento com frequência manifesta relaxamento ventricular anormal (OTTO 2000).

Os resultados obtidos coincidem com os descritos por De Freitas et al., (2005), que estudou a função diastólica na insuficiência renal crônica e considera que em pacientes hipertensos e com hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, pode-se esperar algum grau de disfunção diastólica. O aumento de TRIV também foi evidenciado por Stoddard et al. (1992) em humanos obesos, mas com a relação E/A normal.

Como esperado neste estudo pela presença da hipertrofia concêntrica em cães do G3, as médias dos parâmetros radiográficos referentes ao sistema de escala vertebral (VHS) não apresentaram diferenças estatísticas quando comparados os grupos. Fato também evidenciado em cães com insuficiência renal crônica e cardiomiopatia hipertensiva segundo Paulino (2010). Assim, foram encontradas médias da área cardíaca normal, segundo os valores descritos por Buchanan e Bucheler (1995). Entretanto, o aumento do VHS tem sido descrito com maior frequência em doenças caracterizadas por sobrecarga de volume que geram cardiomegalia (LAMB 2002).

Quanto aos biomarcadores de lesão cardíaca deste estudo, verificou-se que as determinações das concentrações séricas da aldosterona e a concentração

plasmática da renina foram significativamente maiores para cães do grupo G3. Estes resultados podem sugerir a ativação dos mecanismos compensatórios como o SRAA. Estes achados também foram descritos em cães por Ware (2006) e por Paulino (2010).

A hipertensão arterial sistêmica é considerada um importante fator de morbidade e mortalidade cardiovascular e é bem descrito que sua presença contribui significativamente para a mortalidade dos pacientes renais crônicos. Os mecanismos envolvidos na fisiopatogenia da HAS se relacionam diretamente com a ativação do SRAA e do sistema nervoso simpático (FINCO, 1995; POLZIN; OSBORNE, 1995; LONDON, 2003; BROWN et al., 2007; GRAUER, 2009). Por sua vez, a aldosterona também tem participação no processo inflamatório, fibrose tecidual e esclerose nos rins, além de reter sódio e conseqüentemente água no túbulo contornado distal, perpetuando assim os quadros hipertensivos (NISTALA et al., 2008).

Assim como neste estudo, o aumento da PA e a ativação dos mecanismos compensatórios como o SRAA foram descritos em cães com IRC por Kincaid-Smith (1983), Skidgel et al. (1984), Ross (1992), e por Paulino (2010).

A resistência vascular periférica, e a liberação de substâncias reativas produz nos vasos arteriais, inflamação, aderência de moléculas e depósito de proteínas na matriz extracelular, entre outros problemas, sendo que estes fatores contribuem no quadro da hipertensão arterial (SHIMIZU, 2005; SCHIFFRIN et al., 2007)

Cães com LV do grupo G3 apresentaram aumentos das concentrações séricas de Troponina I e CK-MB. Os aumentos destas enzimas podem ser atribuídos ao remodelamento cardíaco em decorrência da hipertensão arterial sistólica. Resultados similares foram encontrados neste estudo com aumento da TcI, descritos em cães com severa degeneração mixomatosa da valva mitral e hipertrofia concêntrica em decorrência de insuficiência renal, em ambos os casos esse aumento está associado à injúria do miocárdio (LJUNGVALL et al, 2010; PAULINO, 2010).

O uso da determinação das troponinas cardíacas como marcadores de alta especificidade para o miocárdio tem sido estabelecido em diversas espécies, sendo incluídas nestas, os cães e os seres humanos (RALLI et al, 2005). O aumento da troponina I também foi evidenciado em cães com doença renal crônica por Sharkey

et al, (2009) e em cães e gatos com azotemia renal sem manifestação clínica de doença cardíaca por Porciello et al., (2008). Há uma correlação positiva no aumento da concentração plasmática de troponina I e o aumento no tamanho do átrio esquerdo e o ventrículo esquerdo, assim como foi evidenciado o aumento da troponina I em cães com estenose sub-aórtica e em cães com hipertrofia das paredes do ventrículo esquerdo, segundo Oyama & Sisson (2004).

Em relação as concentrações séricas de CK-MB, Paulino (2010) observou valores superiores, porém sem diferença estatística significativa em cães com insuficiência renal e hipertrofia concêntrica, por outro lado, no presente estudo, os cães com LV do grupo G3 apresentaram aumento significativos dos valores séricos de CK-MB.

Ainda em relação à CK-MB, Shell et al. (1973) descreveram que as áreas de isquemia e a presença do infarto do miocárdio poderiam ser prever aumentos nas concentrações séricas de CK-MB. Sharkey et al. (1989) correlacionaram o aumento do CK-MB com a presença tanto de lesões agudas quanto crônicas no miocárdio.

A lesão no miocárdio estipulada pelo aumento CK-MB, também foi evidenciada em cães com cardiopatia chagásica por Souza et al., (2008), além de serem evidenciadas anormalidades eletrocardiográficas e ecocardiográficas. Schober (2005) enfatiza em que o CK-MB não é tão específica quanto à troponina I, contudo, os valores séricos desta enzima são importantes para o acompanhamento de uma doença cardíaca ou tratamento de afecções do coração.

Dos 43 cães deste estudo, 12 (27%) apresentaram alteração no parâmetro inflamação do VE e 8 cães (18%) mostraram alteração no parâmetro necrose, mas quando estes cães distribuídos pelos valores de pressão arterial sistólica entre os grupos, apenas os cães do G3 apresentaram alterações no parâmetro inflamação no VD. Ressaltando mais uma vez que os cães não apresentaram diferenças significativas para estes parâmetros quando comparados entre os grupos. Este é um dado inédito desta pesquisa, que mesmo evidencia alterações no tecido cardíaco decorrentes da presença do parasita ou de uma reação inespecífica do miocárdio ante a presença do parasita. Estas alterações foram insuficientes para alterar a função cardíaca e o remodelamento evidenciado no VE (hipertrofia concêntrica),

demonstrados nos cães com LV do grupo G3 desta pesquisa. Os resultados da pesquisa em tela, determinaram que as alterações cardiovasculares mais importantes de cães com LV transcorreram em decorrência da alteração hemodinâmica pela sobrecarga de pressão, consequente à HSA. Estes achados são amplamente ratificados pelos aumentos dos biomarcadores CKMB e Troponina I, embora os cães com LV deste estudo apresentem alterações histopatológicas nos cães do G1 e G2, ainda mais evidenciado no parâmetro inflamação apresentado em 27% destes cães. Provavelmente, estas alterações foram insuficientes para gerar aumentos destes biomarcadores, sendo este o primeiro trabalho a descrever aumentos das concentrações séricas destes marcadores mormente em decorrência da sobrecarga de pressão e consequente remodelamento cardíaco pela HSA como evidenciado em cães com LV do grupo G3 deste estudo.

Na necropsia, as alterações macroscópicas mais comumente observadas no miocárdio dos cães com LV do grupo G3 deste estudo foram hipertrofia ventricular esquerda e em menor proporção dilatação ventricular direita, achados similares foram encontrados por Zabala et al. (2005) e Rosa (2012).

Em estudo desenvolvido por Rosa (2012), foram avaliadas a reação inflamatória das 4 câmaras cardíacas, a qual caracterizou-se pela presença de infiltrado do tipo linfoplasmocitário observado em 90% de cães com LV. Assim como avaliada também a presença de granulomas em 23,3% desses cães com LV. Em contraposição, os resultados da presente investigação científica identificou só dois cães com presença de granuloma no VE e dois cães (4%) com presença de granuloma no VD, assim esses resultados não evidenciaram nenhum dado significativo para este parâmetro nos grupos de cães com LV estudados.

A necrose de cardiomiócitos esteve presente em 18% da população total dos cães com LV estudados, diferindo dos resultados encontrados por Rosa (2012), descrevendo que o 80% dos cães com LV, apresentam focos histológicos de necrose, os quais foram encontrados com maior frequência no átrio e ventrículo direitos.

Quanto aos parâmetros histopatológicos de inflamação e necrose, é bem possível que essa prevalência deva-se ao fato que neste estudo somente foram avaliados cortes histológicos do VE e do VD. Vinte sete (27%) dos cães deste

estudo apresentaram alteração no parâmetro inflamação do VE e 18% destes cães mostraram alteração no parâmetro necrose, conforme anteriormente descrito.

Os resultados na avaliação histopatológica referentes à inflamação e necrose de cardiomiócitos evidenciados nos grupos de cães com LV estudados, podem sustentar-se em observações descritas por Rosa (2012), descrevendo que em cães naturalmente acometidos pela LV podem ocorrer diferentes tipos de lesão de cardiomiócitos.

Embora a literatura descreva o acometimento cardíaco como um evento raro em cães e seres humanos com LV (FERRARI et al., 2006; PUERTO-ALONSO et al., 2006; LÓPEZ-PEÑA et al., 2009; ALVES et al., 2010). A prevalência das lesões cardíacas não foi muito alta, mas foi possível verificar alterações histopatológicas no total da população de cães com LV avaliada, quiçá pela falta de avaliação das câmaras atriais poder-se-iam alterar a prevalência das lesões evidenciadas, contudo, sem repercussão hemodinâmica. Uma alta prevalência destas alterações em cães com LV foi recentemente relatada por Rosa (2012). Entretanto, conforme já citado e descrito pelo mesmo autor, as lesões e a presença do parasita no estudo foram mais evidente no átrio direito e no VD, outrossim a presença do parasita não foi avaliada neste estudo.

A ocorrência de necrose de cardiomiócitos associada à miocardite por LV, também foi relatada em um caso isolado de um cão com LV por Ferrari et al., (2006). O infiltrado inflamatório também tem sido observado no miocárdio de cães e seres humanos com cardiomiopatia chagásica crônica (ROSSI, 1998; PAVARINI et al., 2009).

Embora exista prevalência de infiltrado inflamatório e necrose de cardiomiócitos, tais alterações foram discretas e insuficientes para produzir manifestações clínicas de comprometimento cardíaco nos cães com LV estudados, da mesma forma, argumentos similares foram descritos por Rosa (2012).

Possivelmente manifestações clínicas de doença cardíaca seriam demonstradas se os cães não tivessem sido submetidos à eutanásia nem ao tratamento para a doença. Nestes grupos de cães com LV estudados, não se pode concluir se as lesões histopatológicas de inflamação e necrose são decorrentes do

parasita ou da resposta imune ante à presença do parasita, já que como descrito anteriormente, a presença do parasita no miocárdio não foi pesquisada.

Quanto à avaliação da função renal, cães com LV do grupo G3 apresentaram aumentos significativos nas concentrações séricas de Uréia, Cálcio, Fósforo, e Magnésio, assim como do UPC e a EF sódio. Estes resultados demonstraram o comprometimento da função renal e pelos valores elevados do UPC nos grupos de cães com LV estudados o comprometimento da função glomerular.

Embora a SCr não tenha aumentado significativamente entre os grupos, observou-se que cães com LV do grupo G3 apresentaram uma tendência ao aumento deste marcador do filtrado. A SCr é considerada um marcador de comprometimento da função renal, entretanto, segundo à IRIS 2009¹², deve-se realizar o estadiamento e determinar o grau de comprometimento renal de acordo com os valores da SCr, seguido à sub categorização dos cães pela intensidade da proteinúria e pelos valores da PA.

Muito embora a média do UP/C tenha diferido significativamente maior para cães com LV do grupo G3 quando comparados com os demais grupos, todos os grupos de cães apresentaram aumento deste parâmetro, cães do grupo G1 apresentaram média de UP/C de 0,52, cães do grupo G2 média de 0,82 e cães do grupo G3, média de 1,93. Grauer et al. (1985) demonstraram que valores de UP/C normais estão entre 0,2 a 0,3 ou menos. Proteinúria persistente com valores de UP/C entre 0,4 e 0,5 em cães e gatos, quando descartada proteinúria pré-renal ou pós-renal, é considerada como um sinal de doença renal crônica glomerular ou túbulo-intersticial. Já UP/C maiores de 2,0 são fortemente sugestivos de enfermidade glomerular (GRAUER, 2007). Segundo Newman et al (2000), existe correlação entre o excesso de proteína no filtrado, resultante de lesão glomerular e o estímulo inicial para a inflamação intersticial e suas consequências. Estudos em pacientes humanos com proteinúria sugestiva de enfermidade renal sugerem que a mesma está relacionada com a progressão da doença (GRAUER 2007). É sabido que doenças renais, a intensidade da proteinúria é modificada tanto pela existência da doença como pelo seu estadiamento. A proteinúria persistente de origem renal é

¹² http://WWW.iris-kidney.com/guidelines/em/staging_ckd.shtml.

um importante marcador de enfermidade renal crônica em cães e gatos (MARTINEZ & CARVALHO, 2010).

Em estudo desenvolvido por Braga (2012), foi avaliada a função glomerular, por meio da determinação do UP/C em 68 cães com LV, 90% desses apresentavam hipertensão arterial e valores elevados do UP/C, assim como o aumento do UP/C também foi evidenciado em 72,4% do grupo de cães com valores de pressão arterial entre os parâmetros de normalidade, segundo valores para pressão arterial descritos por Brown et al. (2007).

Entretanto, o autor supracitado descrevera que na avaliação histopatológica do tecido renal, 97% dos cães desse estudo possuíam algum tipo de alteração glomerular, sendo que 70,6% destes apresentavam lesões intersticiais. Embora no estudo em tela não tenha sido avaliada as lesões histopatológicas nos rins. Na população total de cães com LV deste estudo evidenciou-se 100% de comprometimento da função glomerular, segundo os valores relativos ao UP/C. A prevalência de doenças glomerulares em cães com LV, assemelha-se aos relatos de Costa et al. (2003) que, ao avaliarem 55 cães naturalmente acometidos por LV, encontraram glomerulopatia em 100% dos animais. Vários relatos de casos e estudos em cães com LV mencionaram o comprometimento da função glomerular (FONT et al 1993; BLAVIER et al. 2001; LUVIZOTTO, 2006. CORTADELLAS et al., 2006; CORTADELLAS et al., 2008; BRAGA, 2012; CORTADELLAS et al., 2012).

As glomerulopatias terão como mecanismo compensatório a ativação do SRAA, em vista da preservação dos nefrons remanescentes, a ativação crônica deste mecanismo também desencadeará hipertensão capilar glomerular e aumento da permeabilidade seletiva dos poros do glomérulo resultando em perda de proteína pela urina (SCOTT, 2008). Por sua vez, a produção da angiotensina II, em particular exerce uma potente vasoconstrição sistêmica também manifestada nas células glomerulares e tubulares, contribuindo para o estresse oxidativo e morte dos nefrons. Além disso, a constrição da arteríola eferente limita o fluxo sanguíneo dos capilares peritubulares, produzindo hipóxia tecidual e aumento a produção de radicais livres, desta forma comprometendo ainda mais os glomérulos (SCOTT, 2008). A hiperfiltração glomerular também induz a liberação da nefrina, sendo esta uma proteína constituinte do diafragma das fendas inter-podais dos podócitos

glomerulares, cuja função é manter a integridade do diafragma das fendas, limitando a perda de proteínas pelo glomérulo. Quando sua expressão é reduzida, ocorre a proteinúria (SHIMIZU, 2005; SCOTT, 2008).

Pontremoli et al. (1997), demonstraram em 211 pacientes humanos hipertensos sem tratamento, que aqueles que apresentavam excreções elevadas de albuminúria apresentaram maior índice de massa do ventrículo esquerdo (VE) e uma maior prevalência de hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo. Resultados semelhantes em seres humanos com evidências eletrocardiográficas e ecocardiográficas, foram documentadas por Watchel et al. (2002). Dell’Omo et al. (2002), determinou que a relação entre proteinúria e doença cardiovascular pode ser devido a fatores de risco quais sejam: hipertensão arterial, diabetes, dislipidemia inflamação, e com certeza doença renal crônica, estes fatores são mais comum em pessoas com proteinúria e doença cardiovascular. Conforme descrito pelo autor a proteinúria reflete a gravidade da hipertensão arterial. O paciente com hipertensão arterial mais grave será mais propenso a ter hipertrofia do ventrículo esquerdo e, posteriormente, desenvolver distúrbios cardiovasculares mais severos.

Um estudo em pacientes humanos com diabetes mellitus tipo 2, informou albuminúria em 1748 participantes humanos, associando a presença da albuminúria com disfunção sistólica, bem como com pre-enchimento diastólico anormal (LIU, 2003).

Os cães com LV do grupo G3 apresentaram valores aumentados para as concentrações séricas da uréia, portanto seu aumento indica o comprometimento da função renal, sendo a uréia uma substância osmoticamente ativa, que atua livremente no mecanismo de contracorrente tubular e tem um papel importante na concentração da urina. Aumentos muito marcantes das concentrações séricas da uréia sem aumentos importantes da concentração sérica de creatinina podem ser indicativos de comprometimento predominante da função tubulointersticial (FINCO & DUNCAN 1976; BODEY & MITCHEL 1996; MARTÍNEZ & CARVALHO 2010).

Resultados similares aos obtidos nesta pesquisa foram evidenciados em cães portadores de LV com lesão renal por Braga (2012), encontrando na população total de cães com LV, que 19,1% destes animais apresentavam elevação da

concentração sérica da uréia, assim como nestes resultados da presente pesquisa foi encontrado também que 100% destes animais pertenciam ao Grupo hipertenso.

Aumentos bastante consideráveis da concentração sérica da uréia, também foram evidenciados por Cortadellas et al., (2012) em cães com LV e estadiamento da função renal em fases 3 e fase 4. Braga (2012) descreveu que apesar das concentrações séricas da uréia serem utilizadas para avaliar a função renal, suas concentrações podem ser influenciadas por fatores de origem não renal, tais como ingestão proteica e perda da massa muscular.

Em relação às concentrações séricas de cálcio, estas se apresentaram aumentadas para o grupo de animais G3 quando comparadas com as médias dos demais grupos, estes parâmetros permaneceram entre valores de normalidade para todos os grupos de cães estudados, seguindo os valores descritos por Rosol & Cappen, (1996). Entretanto, baseados pelos valores de normalidade dos mesmos autores, cães do Grupo G3 apresentaram aumentos significativos da concentração sérica de fósforo, evidenciando assim um quadro de hiperfosfatemia.

Em relação ao aumento das concentrações séricas de fósforo de cães do G3, Braga (2012) também evidenciou a presença da hiperfosfatemia em 57,3% do total de cães com LV estudados, dos quais o 100% destes, pertenciam ao grupo hipertenso e 50% ao grupo de cães com pressão arterial dentro os parâmetros de normalidade. Entretanto, diferentemente dos resultados da presente pesquisa, o autor observou hipocalcemia em 89,7% destes animais, sendo que o 90% pertenciam ao grupo hipertenso.

Cortadellas et al. (2012) avaliaram 155 cães com LV que apresentavam diferentes estágios de doença renal crônica, observando assim a presença de hiperfosfatemia em 12% de cães com LV no estágio 1A, em 11,8% no estágio 1B, 50% no estágio 2, 76,9% no estágio 3 e finalmente 100% no estágio 4. Assim como em nestes resultados, nenhum dos cães do estudo manifestou hipocalcemia.

Como descrito por Barber & Elliot (1998), animais em estágio avançado de doença renal, apresentam concentrações elevadas de fósforo pela incapacidade de excreção dos rins quando diminui a TFG. De forma semelhante aos resultados desta pesquisa, Kojika et al. (2006) detectou hiperfosfatemia em 92% dos cães com insuficiência renal crônica, corroborando com os resultados de Martínez & Carvalho

(2010), que detectaram aumento da concentração sérica de fósforo em cães com doença renal crônica.

Com relação às concentrações séricas de cálcio total, resultados similares foram encontrados em cães com doença renal crônica por Martínez & Carvalho em (2010). O presente estudo não dosou concentração sérica de cálcio iônico (Cai), sendo este um fator que deve ser levado em consideração, posto que a dosagem de Cai tem se mostrado superior a mensuração de Cálcio total em várias condições, em especial em casos de hiperparatireoidismo, doença renal, hipo e hiperproteinemia, entre outros (SCHENK & CHEW 2005).

Durante estudo feito por Giovaninni (2003), foi evidenciado em gatos com IRC, aumentos na concentração sérica de Cai, já os valores séricos de cálcio total observados nos gatos com IRC não diferiram daqueles observados no grupo controle, o que também foi observado em cães com LV deste estudo. Bienzle et al. (1993) também não observaram diferenças nas concentração de cálcio total no seu grupo de cães com doença renal crônica estudado.

Ainda que não tenha havido diferenças significativas entre os grupos de cães com LV estudados para as concentrações séricas de sódio, todos os cães com LV deste estudo apresentaram diminuição das concentrações séricas do sódio quando comparados com parâmetros de referência em cães saudáveis (CARNEIRO, 2002). Outrossim, cães do grupo G3 evidenciaram tendência ao aumento do sódio em suas concentrações médias. É descrito que pacientes com insuficiência renal crônica sofrem alterações importantes que comprometem a homeostase do sódio (SILVA 2002).

Foi descrito anteriormente o grave comprometimento glomerular de cães portadores de LV da presente pesquisa, assim deve-se ter em conta as conotações descritas por Toto & Seldin (1992), descrevendo que animais com IRC com perda severa de sódio apresentam lesão renal caracteristicamente túbulo-intersticial crônica, mas pacientes com lesões predominantemente glomerulares apresentam a forma suave de perda de sódio.

Por outro lado, a tendência do aumento do sódio em cães do grupo G3, poderia ser atribuída a ativação do SRAA, que começa quando a renina é liberada na circulação em resposta à queda da pressão na arteríola glomerular aferente, ou

quando há diminuição na PA, de outra forma, também é liberada como mecanismo compensatório da hipertensão arterial sistêmica e da hiperfiltração glomerular. A liberação ocorre em resposta ao estímulo das células do aparelho justaglomerular, onde a renina é formada e armazenada. (KINCAID-SMITH, 1983; SKIDGEL et al. 1984).

Por sua vez, a clivagem da renina resulta na produção de angiotensina II que é um potente vasoconstrictor sistêmico, e também promove vasoconstrição da arteríola eferente, reduzindo assim o fluxo sanguíneo e aumentando a taxa de filtração glomerular, outrossim, a angiotensina II estimula a liberação de aldosterona na glândula suprarrenal, resultando na reabsorção de sódio e consequentemente de água no túbulo contornado distal (KINCAID-SMITH, 1983; SKIDGEL et al. 1984; ROSS, 1992, PAULINO 2010).

Quanto à concentração sérica de magnésio, foi evidenciado em cães do grupo G3 aumento significativo que diferiu dos demais grupos de cães com LV estudados, talvez seja que nos rins se gera o balanço, controle e regulação do magnésio, aproximadamente 80% do magnésio é filtrado nos glomérulos, sendo 70 % deste reabsorvido na porção distal da alça de Henle (QUAMME & DE ROUFFIGNAC, 2000; SATOH & HOMERO, 2002).

A EF de sódio dos cães do G3 mostrou aumento significativo em comparação aos demais grupos de cães com LV estudados, a EF de cálcio e magnésio também tiveram tendência ao aumento para o G3, mas sem diferenças significativas entre os grupos. Assim, como evidenciado neste estudo, Buranakarl et al. (2007) e Martínez & Carvalho (2010) encontraram aumentos nas EF dos eletrólitos em cães com doença renal crônica. Buranakarl et al. (2007) mencionaram que os grupos de cães com comprometimento renal mais severo, apresentavam aumento da excreção fracionada de sódio assim como hipertensão arterial, relacionando estes resultados com a diminuição da TFG e a retenção renal de sódio decorrente da ativação do SRAA.

Quanto mais alta a EF dos eletrólitos, mais defeituoso é o transporte das células tubulares renais, especialmente no túbulo proximal (FINCO, 1995). Os valores da EF dos íons podem permanecer inalterados em animais doentes quando ocorre decréscimo na TFG e no fluxo plasmático renal (ALLEN et al. 1987).

Também, o aumento da EF dos eletrólitos será a resposta a diminuição na TFG, indicando o comprometimento na homeostase de eletrólitos (BURANAKARL et al. 2007). Por sua vez, a EF de sódio é influenciada por fatores que alteram a hemodinâmica renal e a velocidade do fluxo tubular (FINCO 1991; BROWN 1994; KING 1994; MARTINEZ & CARVALHO 2010).

Após avaliação e entendimento dos parâmetros anteriormente descritos de função renal, o presente estudo determinou que os cães com LV do grupo G3 apresentavam lesões renais mais marcadas em comparação aos demais grupos de cães estudados, e que a presença da HAS decorre da hiperfiltração glomerular e da ativação dos mecanismos compensatórios.

É sabido que em cães com doença glomerular a hipertensão arterial é detectada em 85% dos casos (BARTGES, 1996). E a hipertensão sistêmica é identificada como um fator de risco expressivo para o desenvolvimento de doença renal terminal (TOTO et al., 1995; KLAG et al., 1996; SCHIFFRIN et al., 2007).

Finalmente, a sobrecarga de pressão no ventrículo esquerdo, ou seja, o aumento da pós-carga, decorrente da HAS de origem renal, terá como consequência o remodelamento das fibras miocárdicas, evidenciando a hipertrofia concêntrica do VE em cães com LV do grupo G3.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo a partir da metodologia utilizada permitem concluir:

- Cães com LV e hipertensão arterial sistêmica desenvolvem hipertrofia concêntrica e alterações na função diastólica do coração em resposta da doença renal;
- Alterações eletrocardiográficas referentes ao aumento da duração da onda P e o aumento do intervalo PR nos grupos de cães G3 acontecem como mecanismo compensatório em decorrência da sobrecarga de pressão no ventrículo esquerdo;
- Cães hipertensos com LV e nefropatia apresentam aumentos nas concentrações séricas de Renina e Aldosterona sugerindo ativação do SRAA;
- Cães hipertensos com LV e nefropatia evidenciam injúria miocárdica atribuída à sobrecarga de pressão do ventrículo esquerdo caracterizada pelo aumento significativo dos biomarcadores Troponina I e CK-MB.
- Cães com LV apresentam alterações histopatológicas de inflamação e necrose, principalmente no ventrículo direito.

7. REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed. Washington: OPS/WHO Publication científica n. 503. p. 615-634. 1986.

AKINTUNDE A. A.; AKINWUSI, P. O.; OPADIJO, G. O. Relationship between Tei index of myocardial performance and left ventricular geometry in Nigerians with systemic hypertension. **Cardiovasc J Afr.** May-Jun. v. 22, p.124-127, 2011.

ALBUQUERQUE, A. R. **Aspectos epidemiológicos, clínicos e de diagnóstico em cães (*Canis familiares*) (LINNAEUS, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (CUNHA & CHAGAS, 1937).** 2006. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

ALENCAR, J. E.; PESSOA, E. P.; FONTENELE, Z. F. Leishmaniose Visceral no Brasil. **Revista de. Medicina da Universidade Federal do Ceará**, n. 17/18, p. 129-148, 1978.

ALLEN, T.A.; JAENKE, R.S.; FETTMAN, M.J. A technique for estimating progression of chronic renal failure in the dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association.** v. 190, n. 7, p. 866-868, 1987.

ALVES, G.B.B.; PINHO, F.A.; SILVA, S.M.M.S.; CRUZ, M.S.P.; COSTA, F.A.L. Cardiac and pulmonary alterations in symptomatic and asymptomatic dogs infected naturally with Leishmanis (*Leishmania*) *chagasi*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.43, n.3, p.310-315, 2010.

BANETH, G.; SOLANO-GALLEGO, L. Canine Leishmaniasis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat.** Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012. p.735-748.

BANETH, G.; KOUTRINAS, A. F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BOURDEAU, P.; FERRER, L. Canine leishmaniosis: new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends in Parasitology**, v.24, n.7, p.324-330, 2008.

BARBER, P. J. & ELLIOTT, J. Feline chronic renal failure: Calcium homeostasis in 80 cases diagnosed between 1992-1995. **J Small Anim Pract.** v. 39, p.111-116. 1998.

BARTGES, J. W. Hypertension and Kidney disease. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Medicine Practice**, New York, v. 26, n. 6, p. 1331-1345, 1996.

BIENZLE, D.; JACOBS, R.M.; LUMSDEN, J.H. Relationship of serum total calcium to serum albumin in dogs, cats, horses and cattle. **Canadian Veterinary Journal.** v. 34, p. 360-364, 1993.

BLAVIER, A.; KEROACK, S.; DENEROLLE, P. H. et al. Atypical forms of canine leishmaniosis. **Journal of Veterinarian medicine**. v.162, p.108–120. 2001.

BODEY, A. R.; MICHELL, A. R. Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs. *J Small Anim Pract*. v. 37, p. 116–125. 1996.

BOIM, M. A.; TEIXEIRA, V. P. C.; SCHOR, N. Rim e compostos vasoativos. In: ZATZ, R. **Fisiopatologia renal**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 21-39.

BOON, J.A. **Manual of veterinary echocardiography**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. 487p.

BORGARELLI, M., TARDUCCI, A., ZANATTA, R., HAGGSTROM, J. Decreased systolic function and inadequate hypertrophy in large and small breed dogs with chronic mitral valve insufficiency. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia. v.21, n. 1, p.61-7, 2007.

BOVÉE, K.C. et al. Essential hypertension in a dog. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**,v.195, p.81-86, 1989.

BRAGA, E. **HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA E SUA CORRELAÇÃO COM AS LESÕES RENAIIS DE CÃES NATURALMENTE ACOMETIDOS POR LEISHMANIOSE VISCERAL**. 2012. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica) – Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Câmpus de Araçatuba, Araçatuba 2012

BRITO, F.L.C.; ALVES, L.C.; ORTIZ, J.P.D.; MAIA, F.C.L.; SILVA JUNIOR, V.A.; LAUS, J.L. Uveitis associated to the infection by *Leishmania chagasi* in dog from Olinda city, Pernambuco, Brazil. **Ciencia Rural**, v. 34, p. 925-929, 2004.

BROWN, S. A. Evaluation of a single injection method for estimating glomerular filtration rate in dogs with reduced renal function. **American Journal of Veterinary Research**. v.55, n.10, p.1470-1472, 1994.

BROWN, S.; ATKINS, C.; BAGLEY, R.; CARR, A.; COWGILL, L.; DAVIDSON, M.;EGNER, B.; ELLIOTT, J.; HENIK, R.; LABATO, M.; LITTMAN, M.; POLZIN, D.; ROSS,L.; SNYDER, P.; STEPIEN, R.. Guidelines for the Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. **J Vet Intern Med**. v.21, p. 542–558, 2007.

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

BURANAKARL, C.; ANKANAPORN, K.; THAMMACHAROEN, S.; TRISIRIROJ, M.; MALEERATMONGKOL, T.; THONGCHAI, P.; PANASJAROEN, S. Relationships Between Degree of Azotaemia and Blood Pressure, Urinary Protein:Creatinine Ratio

and Fractional Excretion of Electrolytes in Dogs with Renal Azotaemia. **Veterinary Research Communications**. v. 31, p. 245–257, 2007.

Burgess, M. and Ray, S. “Use of a Doppler-Derived Index combining Systolic and Diastolic Function in Patients After Myocardial Infarction”. **Rev. Echocardiogr**. v.15. n.8, p. 12, 1998.

CAMACHO, A.A.; MUCHA, C.J. Semiologia do sistema circulatório de cães e gatos. In: FEITOSA, F.L.F. Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008. cap.6, p.246-273.

CARABELLO, B.A. The relationship of left ventricular geometry and hypertrophy to left ventricular function in valvular heart disease. **The Journal of Heart Valve Disease**, v.4, n. 2, p.132-138, 1995.

CARNEIRO, R.S. **Contribuição ao estudo do clearance de creatinina e da excreção fracionada de sódio, potássio e ureia e determinação de valores de referencia de indicadores de função renal em cães**. 2002. Dissertação de mestrado em medicina veterinária – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal 2002.

CHAPAM, J. R.; HANSON, W. L. Leishmaniasis. In: Greene, C.E. Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat. Philadelphia: Saunders. Cap 51. P. 764 – 770, 1984.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine Leishmaniasis: Clinical and Diagnostic Aspects. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.25, n.5, p.358-368, 2003.

CORTADELLAS, O.; PALACIO, M. J. F.; BAYÓN, A.; ALBERT, A.; TALAVERA, J. Systemic hypertension in dogs with leishmaniasis: prevalence and clinical consequences. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.20, n.4, p.941-947, 2006.

CORTADELLAS, O.; PALACIO, M. J. F.; TALAVERA, J. BAYÓN, A. Glomerular filtration rate in dogs with leishmaniasis and chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.22, p.293-300, 2008.

CORTADELLAS, O.; FERNÁNDEZ-DEL PALACIO, M.J.; TALAVERA, J.; BAYÓN, A. Serum phosphorus concentrations in dogs with leishmaniosis at different stages of chronic kidney disease. **Veterinary Record**, v. 164, p. 487-490, 2012.

COSTA, C. H. N.; PEREIRA, H. F.; PEREIRA, F. C. A.; TAVARES, J. P. Is the household dog a risk factor for american visceral leishmaniasis in Brazil? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, p. 464, 1999.

COSTA, F. A. L.; GUERRA, J. L.; SILVA, S. M. M. S. et al. CD4+ cells participate in the nephropathy of canine visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 33, p.1455-1458, 2000.

COSTA, F. A. L.; GOTO, H.; SALDANHA, L. C. B.; SILVA, S. M. M. S.; SINHORINI, I. L.; SILVA, T. C.; GUERRA, J. L. Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Pathology**, v. 40, p. 677-684, 2003.

CVE. Centro de Vigilância Epidemiológica. Informe técnico: doença de Chagas. 2005. 4p. Disponível em <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/if_chagas05.pdf>. Acesso em 10 jan. 2010.

DE FREITAS, V. C.; DANZMANN, L. C.; TORRES, M. Avaliação da função diastólica ventricular esquerda na insuficiência renal crônica: ênfase no ecocardiograma por Doppler pulsado tecidual. *Revista HCPA*, v. 25, n. 3, p. 76-84, 2005.

DELL'OMO G, PENNO G, GIORGI D, et al. Association between high-normal albuminuria and risk factors for cardiovascular and renal disease essential hypertensive men. *Am J Kid Dis*. 2002;40:

DE MORAIS, C. F.; DUARTE, M. I. S.; CORBETT, C. E. P.; REIS, M. M. Alterações morfológicas cardíacas no curso da leishmaniose visceral humana. Estudo baseado em 16 casos de necropsia. *Arq. Bras. Cardiol*. v. 51, n. 6, p. 441-445, 1988.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v.27, n.5, p.305-318, 2004.

DI FILIPPO, P. A.; SANTANA, E. A. Atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase em equinos com cólica. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1138-1143, 2008.

FAUST, E. C.; RUSSEL, P. F. & JUNG, R. C. et al. *Parasitologia Clínica*. **Editora Salvat S.A**: México. 888 p, 1974.

FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; LUVIZOTTO, M. C. R.; PERRI, S. H. V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, v.5, n.28, p.36-44, 2000.

FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; BONELLO, F. L.; CIARLINI, P. C.; GONÇALVES, M. E; LIMA, V. M. F.; PERRI, S. H. V. 2005. Cerebrospinal fluid (CSF) evaluation in dogs naturally infected with visceral leishmaniasis, with and without neurological symptoms. *Vet. Not*. 11, 61–69.

FEITOSA, M. M. Avaliação clínica de animais naturalmente infectados. In: FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, I, 2006, Jaboticabal. **Anais**. Jaboticabal, 2006. p. 9-13.

FEITOSA, F.L.F. Exame físico geral ou de rotina. In: *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008. cap.4, p.65-86.

FERRARI, H. F.; RIBEIRO, D.; LUVIZOTTO, M. C. R. Miocardite associada à *Leishmania* sp em cão - relato de caso. In: *FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA*, 1., 2006, Jaboticabal. Proceedings...Jaboticabal: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006. p. 48.

FINCO, D. R.; DUNCAN, J. R. Evaluation of blood urea nitrogen and serum creatinine concentrations as indicators of renal dysfunction: a study of 111 cases and a review of related literature. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 68, n. 7, p. 593-601, 1976.

FINCO, D. R. Exogenous creatinine clearance as a measure of glomerular filtration rate in dogs with reduced renal mass. *American Journal of Veterinary Research*. v 52. n. 7, p. 1029-1032, 1991.

FINCO, D. R. Evaluation of Renal Functions. In: OSBORNE, C.A.; FINCO, D.R. *Canine and Feline Nephrology and Urology*. Baltimore: Williams e Wilkins, 1995, v.7, p. 216-29.

FONT, A.; CLOSA, J.; M, MOLINA. A.; MASCORT, J. A. Thrombosis and nephritic syndrome in a dog with visceral leishmaniasis. **Journal of Small animal Practice**, v. 34, p. 466-470, 1993.

GALVÃO, A. **Avaliação Clínico-Laboratorial De Cães Com Doença Renal Crônica sob Tratamento com o Antioxidante N-Acetilcisteína**. 2010. Dissertação de Mestrado em medicina veterinária – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal 2011.

GENARO, O. **Leishmaniose visceral canina experimental**. 1993, 202f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.

GIOVANINNI, L.H. **Avaliação do cálcio sérico e ionizado em gatos saudáveis e em gatos com insuficiência renal crônica**. Dissertação de mestrado em medicina veterinária – Faculdade de medicina veterinária e zootecnia da universidade de São Paulo. 2003.

GRAUER, G. F.; THOMAS, C. B.; EICKER, S. W.. Estimation of quantitative proteinuria in the dog, using the urine protein-to-creatinine ratio from a random, voided sample. **American Journal of Veterinary Research**. v. 46, n.10, p. 2116-2119, 1985.

GRAUER, G.F. Proteinuria: Measurement and Interpretation. **Topics in Companion Animal Medicine**. v. 26, p.121 - 127, 2007.

GRAUER, G. F. Diagnosis, management of hypertension, proteinúria in dogs with chronic renal disease. **DVM Newsmagazine**, *Cleveland, Ohio-USA, April 2009*. Disponível em: <http://veterinarynews.dvm360.com/dvm/Medicine/Diagnosismanagement-hypertension-proteinurial/ArticleStandard/Article/detail/591639?contextCategoryId=45705>. Acesso em 01/07/09.

GRAUER, G.F. Proteinuria: Measurement and Interpretation. Topical Review. **Topics in Companion Animal Medicine**. v. 04, p.121 - 127, 2011.

HARNETT, J. D.; KENT, G. M.; BARRE, P. E.; TAYLOR, R.; PARFREY, P. S. Risk factors for the development of left ventricular hypertrophy in a prospective followed cohort of dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. v. 4, p:1486-1490, 1994.

JERONIMO, S. M. B.; SOUSA, A. Q.; PEARSON, R. D. Leishmaniose. In: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. *Tratado de Medicina Interna*, 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p.2434-2441.

JÜTTNER, C.; RODRÍGUEZ SANCHEZ, M.; ROLLÁN LANDERAS, E.; SLAPPENDEL, R.J.; FRAGÍO ARNOLD, C. Evaluation of the potential causes of epistaxis in dogs with natural visceral leishmaniasis. **Veterinary Record**, v.149, p.176- 179, 2001.

KANG, S. M.; HA, J. W.; RIM, S. L.; CHUNG, N. Index of myocardial performance using doppler parameters in the evaluation of left ventricular function in patients with essential hypertension. *Yonsei Md J*.v.39, n.5, p.446-452. 1998.

KINCAID-SMITH, P. Parenchymatous diseases of the kidney and hypertension. In: GENEST, J. (ed). **Hypertension**. 2.ed. New York: McGraw-Hill, p.989, 1983.

KING, C. Practical use of urinary use fractionnal excretion. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.14, n.9, p.464-468, 1994.

KITTLESON, D.M; KIENLE, R.D. **Small Animal Cardiovascular Medicine**. California: Mosby, 1998. 603p.

KLAG, M. J.; WHELTON, P. K.; RANDELL, B. L.; NEATON, J. D.; BRANCATI, F. L.; FORD, C. E.; SHULMAN, N. B.; STAMLER, J. Blood pressure and end-stage renal disease in men. **The New England Journal of Medicine**, Baltimore, v. 334, p. 13-18, 1996.

KNIGHT, D. H.; CHEN R. K. Y. Re- evaluation and revision of the electrocardiographic criteria for left ventricular hypertrophy in dogs. (Abstract). ACVIM. Scientific proceedings, San Diego,1989.

KOJIKI, M. M.; LUSTOZA, M. D.; NOTOMI, M. K.; WIRTHL, V. B. Serum ionized calcium in dogs with chronic renal failure and metabolic acidosis. **Journal of Veterinary Clinical Pathology**. v.35, n.4, p.441-444, 2006.

KONTOS, V. J.; KOUTINAS, A. F. Old World Canine Leishmaniasis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.15, n.7, p.949-959, 1993.

KOUTINAS, A. F.; POLIZOPOULOU, Z. S.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; ARGYRIADIS, D.; FYTIANOU, A.; PLEVRAKI, K. G. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.35, n.5, p.376-383, 1999.

LAMB, C. R.; BOSWOOD, A. Role of survey radiography in diagnosing canine cardiac disease. **Compendium**, v. 24, n. 4, p. 316-326, 2002.

LASSEN, E. D. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkis, p. 417-550. 2004.

LEITE, J. **Estudo da patogênese da lesão renal e cradiovascular de cães com leishmaniose visceral**. 2010. Dissertação de Mestrado em medicina veterinária – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal 2011.

LINDE, A. SUMMERFIELD, N.J.; SLEEPER, M.M.; WRIGHT, F.B.; CLIFFORD, C.A.; MELGAREJO, T.; KNIGHT, D.H. Pilot study on cardiac troponin I levels in dogs with pericardial effusion. **J. Vet. Cardiol.**, v. 8, n. 1, p. 19-23, 2006.

LIU JE, ROBBINS DC, PALMIERI V, et al. Association of albuminuria with systolic and diastolic left ventricular dysfunction in type 2 diabetes: the Strong Heart study. **J Am Coll Cardiol**. 2003;41:2022-2028.

LJUNGVALL, I.; Höglund, K.; Tidholm, A.; Olsen, L.H.; Borgarelli, M.; Venge, P.; HÄGGSTRÖM, J. Cardiac troponin I is associated with severity of myxomatous mitral valve disease, age, and C-Reactive protein in dogs. **J. Vet. Intern. Med.** v. 24, p.153-159, 2010.

LOCATELLI F, BOMMER J, LONDON GM, MARTIN-MALO A, WANNER C, YAQOOB M, ZOCCALI C. Cardiovascular disease determinants in chronic renal failure: clinical approach and treatment. **Nephrol Dial Transplant**. v.16, p. 459–468. 2001

LONDON, G. M.; MARCHAIS, S. J.; GUERIN, A. P.; FABIANI, F.; METIVIER, F. Cardiovascular function in hemodialysis patients, in **Advances in Nephrology**. v. 20, p. 249-273, 1991.

LONDON, G. M.; GUERIN, A. P.; J, SYLVAIN et al. Cardiac and arterial interactions in end-stage renal disease. **Kidney International**, v. 50. P, 600-608, 1996.

LONDON, G. M. Cardiovascular Disease in Chronic Renal Failure: Pathophysiologic aspects. In: The clinical epidemiology of cardiovascular diseases in chronic kidney disease. Seminars in Dialysis. v. 16, n, 2, p. 85-94, 2003.

LÓPEZ-PEÑA, M.; ALEMAÑ, A.; MUÑOZ, F.; FONDEVILA, D.; SUÁREZ, M. L.; GOICOA, A.; NIETO, J. M. Visceral leishmaniasis with cardiac involvement in a dog: a case report. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.51, 2009.

LUVIZOTTO, M. C. R. Alterações Patológicas em animais naturalmente infectados. In: FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, I, 2006, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal, 2006. p.15-22.

MACIEL, B. A hipertrofia cardíaca na hipertensão arterial sistêmica: mecanismo compensatório e desencadeante de insuficiência cardíaca. **Rev Bras Hipertens**. V. 8,p. 409-413, 2001.

MACDOUGALL, R. C. Role of uremic toxins in exacerbating anemia in renal failure. **Kidney International**, New York, v. 59, suppl 78, p. S67-S72, 2001.

MAGALHAES, P. B. **Ocorrência de Leishmaniose Visceral Humana num Ecosystema de Manguezal – Primeiro Relato de Surto e Fatores de Risco** . Dissertação de mestrado. Curso de pós-graduação em biotecnologia em saúde e medicina investigativa. Fundação Oswaldo Cruz centro de pesquisas Gonçalo Moniz. 2009.

MARIN, D. M.; KATZ, M. A.; BRUCH, C.; BARTEL, T.; BAUMGART, D.; ERBEL, R. The new doppler Tei index as a sensitive adjunctive parameter for assessment of cardiac function in coronary artery diseases. **Rev Echocardiogr**. v.15 n.8. p, 12, 1998.

MARTÍNEZ, P. P; CARVALHO, M. B. Participação da excreção renal de cálcio, fósforo, sódio e potássio na homeostase em cães saudáveis e cães com doença renal crônica, **Pesquisa veterinária Brasileira**, v. 30, no. 10. 2010

MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W. J. Leishmaniose Visceral (Calazar). **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 41, n. 5, p. 61-84, 1981.

MAURICIO, I. L.; HOWARD, M. K.; STOTHARD, J. R.; MILES, M. A. Genomic diversity in the *Leishmania donovani* complex. **Parasitology**, v.119, n.3, p.237-246, 1999

MCCARTHY, D. M. Drug therapy Sucralfate. **N. Engl. J. Med**. 352, pp. 1017, 1991.

MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: desafios e perspectivas. In: XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E I SIMPÓSIO

LATINO AMERICANO DE RICKETIOSIS, 2004, Ouro Preto. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v.23, suplemento 1, p.41-45, 2004.

MELO, G. D.; MARCONDES, M.; VASCONCELOS, R. O.; MACHADO, G. F. Leukocyte entry into the CNS of *Leishmania chagasi* naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v.162, p.248-256, 2009.

MELO, G. D.; Marcondes, M.; Machado, G.F. Canine cerebral leishmaniasis: Potential role of matrix metalloproteinase-2 in the development of neurological disease. **Vet. Immunopathol.** (2012).

MESTRE, G.L.C; FONTES, C.J.F. A expansão da epidemia da Leishmaniose Visceral no Estado de Mato Grosso, 1998-2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.1, 2007.

MICHALICK, M. S. M.; GENARO, O. Leishmaniose Visceral Americana. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11.ed. São Paulo: Atheneu, 2007. p.67-83.

MICHARD, F. et al. Global end-diastolic volume as an indicator of cardiac preload in patients with septic shock. **Chest**, Chicago, v.124, n.5, p.1900-1908, 2003.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Insuficiência renal. In Medicina interna de pequenos animais. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 487-499.

NISTALA, R.; CONNELL, W. A.; SOWERS, R. J. Antioxidant & Redox Signaling. **National Institutes of Health**, Bethesda, v. 12, n. 12, p. 2047-2089, 2008.

NEUMANN, J.; LIGTENBERG, G.; KLEIN, I. I.; KOOMANS, H. A.; BLANKESTIJN, P. J. Sympathetic hyperactivity in chronic kidney disease: pathogenesis, clinical relevance, and treatment. *Kidney Int.* v.65, p.1568–1576,2004.

NOLI, C. Leishmaniosis Canina. **Waltham Focus**, v.9, n.2, p.16-24, 1999.

O'BRIEN, R. **Radiografia torácica para o clínico de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2003.

OTTO, C. Echocardiographic evaluation of ventricular diastolic filling and function. Otto C, Textbook of clinical echocardiography, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2000, p.132–152.

OYAMA, M. A.; SISSON, D. D. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.18, n.6, p. 831-839, 2004.

PALTRINIERI, S., SOLANO-GALLEGO, L., FONDATI, A., LUBAS, G., GRADONI, L., CASTAGNARO, M., CROTTI, A., MAROLI, M., OLIVA, G., ROURA, X., ZATELLI, A., ZINI, E. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. V. 236, p.1184–1191. 2010

PASCON, J. **Avaliação Clínica da Cardiomiopatia Chagásica Crônica em Cães**, 2007. Dissertação de mestrado em medicina veterinária – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal 2011.

PAULINO, D. **Caracterização Clínica da Cardiomiopatia Hipertrófica Hipertensiva em Cães com Doença Renal Crônica (DRC)**. 2010. Tese de Doutorado em medicina veterinária – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal 2010.

PAVARINI, S. P.; OLIVEIRA, E. C.; BANDARRA, P. M.; LEAL, J. S.; UMEZAWA, E. S.; ROZZA, D. B.; DRIEMEIER, D. Miocardite chagásica em caninos no estado do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, v.39, n.4, p.1243-1247, 2009.

PENNA, H. A. Leishmaniose Visceral no Brasil. **Brasil Médico**, v. 18, p. 940-950, 1934.

PEREIRA NETO, G. B.; **Efeitos da correção da obesidade sobre os parâmetros cardiorrespiratórios em cães.**, 106f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Jaboticabal, 2009.

POCAI, E. A.; FROZZA, L.; HEADLEY, S. A.; GRAÇA, D. L. Leishmaniose visceral (calazar). Cinco casos em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 28, n. 3, p. 501-505, 1998.

POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A. Conservative Medical Management of Chronic Renal Failure. In: POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A. **Canine and Feline Nephrology and Urology**. Baltimore, Williams & Wilkins, 1995. cap. 16, p. 508-97.

POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A.; ROSS, S. Chronic renal failure. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Textbook of veterinary internal medicine. 6 ed. Philadelphia : W. B. Saunders, p. 1756-1785, 2005,.

PONTREMOLI R, ANTONELLA S, RAVERA M, et al. Prevalence and clinical correlates of microalbuminuria in essential hypertension: the MAGIC study. *Hypertension*. 1997;30:1135-1143.

PORCIELLO, F. *et al.* Cardiac troponin I is elevated in dogs and cats with azotaemia renal failure and in dogs with non-cardiac systemic disease. **Australian Veterinary Journal**, V. 86, No 10, p. 390-394, 2008.

PRATA, A.; SILVA, L. A.; CALAZAR, I. N.; COURA, J. R.; **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.713 732.

PUERTO-ALONSO, J. L.; MOLINA-RUANO, F. J.; GÓMEZ-SOTO, F.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, F. Leishmaniasis visceral con afectación cardíaca en un paciente inmunocompetente. **Medicina Clínica**, v.127, n.13, p.519, 2006.

QUAMME, G.A.; DE ROUFFIGNAC, C. Epithelial magnesium transport and regulation by the kidney. *Front Biosci.* v.1. n. p, 694-711, 2000.

RALLI, S.; HORWICH, T. B.; FONAROW, G. C. Relationship between anemia, cardiac troponin I, and B-type natriuretic peptide levels and mortality in patients with advanced heart failure. **Am. Heart J.**, v. 150, n. 6, p. 1220-1227, 2005.

REICHMANN, A. M. Leishmaniose visceral canina – uma zoonose emergente. In: FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, I, 2006, Jaboticabal. **Anais.** Jaboticabal, 2006. p.7-8.

REIS, S. E.; OLSON, M. B.; FRIED, L.; REESER, V.; MANKAD, S.; PEPINE, C. J.; KERENSKY, R.; MERZ, C. N.; SHARAF, B. L.; SOPKO, G.; ROGERS, W. J.; HOLUBKOV, R. Mild renal Insufficiency is associated with angiographic coronary disease in women. **Circulation.** v 105, p:2826–2827, 2002.

ROSA, F. A. **Avaliação Histopatológica e Imuno-Histoquímica do Miocárdio de Cães com Leishmaniose Visceral.** 2012. Dissertação de Mestrado em medicina veterinária – Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho Paulista, Araçatuba, 2012.

ROSOL, T.J.; CAPPEN, C.C. Pathophysiology of calcium, phosphoro and magnesium metabolism in animals, **Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice**, vol 26, p.1155-84, 1996.

ROSS, L. A. Hypertension and chronic renal failure. **Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)**, v. 7, n. 3, p. 221-226, 1992.

ROSSI, M. A. Fibrosis and inflammatory cells in human chronic chagasic myocarditis: scanning electron microscopy and immunohistochemical observations. **International Journal of Cardiology**, v.66, n.2, p.183-194, 1998.

SANTA ROSA, I.C.A.; ALVES, P.A.B.; MODENA, C.M.; DIAS, C.M. Leishmaniose Visceral America: uma Revisão e Nova Proposta de Abordagem. **Revista OIKOS**, v. 10, n. 1, p. 71-88, 1997.

SATOH, J.; ROMERO, M.F. Mg²⁺ transport in the kidney. **Biometals.** v. 15, n.3. p, 285-295. 2002.

SCHENK PA, CHEW DJ: Prediction of serum ionized calcium concentration by serum total calcium measurement in dogs, **American Journal of Veterinary Research.** v.66 p. 1330-1336, 2005.

SCHIFFRIN, E. L.; LIPMAN, M.L.; MANN, J. F. Chronic Kidney Disease: Effects on the Cardiovascular System. *Circulation.* **Journal Of The American Heart association.** v.116, p, 85-97, 2007.

SCHOBER, K. E. Biochemical Markers of Cardiovascular disease. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C., **Textbook of Veterinary Internal Medicine** (Diseases of the dog and Cat). Elsevier Saunders, Missouri, 6 ed, v. 2, p.940, 2005.

SCOTT, A. N. D. Oxidative stress and chronic kidney disease. **Veterinary Clinical Small Animal**, Athens , v. 38, p. 157-166, 2008.

SHARKEY, S. W.; ELSPERGER, K. J.; MURAKAMI, M.; APPLE F. S. Canine myocardial creatine kinase isoenzyme response to coronary artery occlusion. **Am J Physiol**, v. 256 p. 508–514, 1989.

SHARKEY, L. C.; *et al.* ; Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in dogs with renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. V. 234, n.6, p. 767-770, 2009.

SHELL, W. E.; LAVELLE, J. F.; COVELL, J. W.; SOBEL, B. E. Early estimation of myocardial damage in conscious dogs and patients with evolving acute myocardial infarction. **J Clin Invest**. v. 52, p: 2579-2590, 1973.

SHIMIZU, M. H. M. A N-acetilcisteína atenua a progressão da doença renal crônica. **Tese de doutorado em medicina** – Universidade de São Paulo USP. Faculdade de Medicina Ribeirão Preto. Departamento de Clínica Médica. 2005, 105p.

SILVA, S.R.R. Pressão arterial e sua relação com a homeostase de sódio em cães com insuficiência renal crônica. 2002. **Disertação de mestrado em medicina veterinária** – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal 2002.

SILVA, B. C.; RACHID, M. A.; VIEIRA, F. G.; FIGUEIREDO, M. M.; VALLE, G. R.; TAFURI, W. L.; TOLEDO JÚNIOR, J. C.; RIBEIRO, V. M. Chronic pericarditis in a naturally *Leishmania (Leishmania) chagasic* infected dog. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.2, n.2, p.107-109, 2009.

SKIDGEL, R. A. et al. Hydrolysis of substance P and neurotensin by converting enzyme and neutral endopeptidase. **Peptides** n. 5, p. 769-776, 1984.

SLAPPENDEL, R. J.; FERRER, L. Leishmaniasis. In: GREENE, C.E. **Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1998. p.450-458.

SOARES, M. J. V. **Leishmaniose visceral canina: aspectos clínico-laboratoriais, histopatologia renal e testes específicos para diagnóstico**, 2003. 68 f. Dissertação (Mestrado – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

SOUSA, M. G. **Ecodopplercardiografia de cães submetidos ao teste de estresse com dobutamina, em diferentes modelos experimentais de cardiomiopatia**. 2004, 134f. Dissertação de Mestrado em Clínica Médica Veterinária – Faculdade de

Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

SOUZA, A. I.; PAULINO, D. J.; GONÇALVES, M. S.; CAMACHO, A. A. Aspectos clínico-laboratoriais da infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em cães de Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.5, p.1351-1356, 2008.

STEPIEN, R. L. Hypertension in cats and dogs. Hypertension-Waltham / OSU. Symposium. Small Animal Cardiology, 2002.

STEPIEN, R. L. The forgotten target organ: The heart in hypertension. **ACVIM Forum** / Canadian VMA Convention. P. 89-90, 2009.

STODDARD, M. F. et al. The influence of obesity on left ventricular filling and systolic function. *American Heart Journal*, Saint Louis, v.124, n. 3, p.694-699, 1992.

TAFURI, W. L.; MICHALICK, M. S. M.; DIAS, M.; GENARO, O.; LEITE, V. H. R.; BARBOSA, A. J. A.; BAMBIRRA, E. A.; COSTA, C. A.; MELO, M. N.; MAYRINK, W. Estudo, ao microscópio óptico e eletrônico, do rim de cães natural e experimentalmente infectados com *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 31, n. 3, p. 139-145, 1989.

TILLEY, L. P.; BURTNICK, N. L. **ECG Eletrocardiografia para o clínico de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2004.

TORRENT, E.; LEIVA, M.; SEGALÉS, J.; FRANCH, J.; PEÑA, T.; CABRERA, B.; PASTOR, J. Myocarditis and generalised vasculitis associated with leishmaniosis in a dog. **Journal of Small Animal Practice**, v.46, n.11, p.549-552, 2005.

TOTO, R.D.; SELDIN. D.W. Salt wastage In: SELDIN, D. W.; GIEBISCH, G. **The kidney: physiology and pathophysiology**. 2.ed. New York: Raven Press, 1992. p.2144-2156.

TOTO, R. D.; MITCHELL, H. C.; SMITH, R. C.; LEE, H. C.; MCINTIRE, D.; PETTINGER, W. A. Strict blood pressure control and progression of renal disease in hypertensive nephrosclerosis. **Kidney International**, New York, v. 48, p. 851- 589, 1995.

TUCKER, B.; FABBIAN, F.; GILES, M.; THURASINGHAM, R. C.; RAINE, A. E.; BAKER, L. R. Left ventricular hypertrophy and ambulatory blood pressure monitoring in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. v. 12, p. 724-728, 1997.

UMEZAWA, E.S.; SOUZA, A.I.; PINEDO-CANCINO, V.; MARCONDES, M.; MARCILI, A.; CAMARGO, L.M.A.; CAMACHO, A.A.; STOLF, A.M.S.; TEIXEIRA, M.M.G. TESA-blot for the diagnosis of Chagas disease in dogs from co-endemic regions for *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma evansi* and *Leishmania chagasi*. *Acta Tropical*, v.111, n.1, p.15-20, 2009.

VAMVAKIDIS, C. D.; KOUTINAS, A. F.; KANAKOUDIS, G.; GEORGIADIS, G.; SARIDOMICHELAKIS, M. Masticatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). **Veterinary Record** , v.146. p. 698-703, 2000.

WARE, W. A. Distúrbios do Sistema Cardiovascular. In: NELSON R. W.; COUTO C. G. Medicina Interna de Pequenos Animais. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p.49-53.

WATANABE. H.; OHTSUKA. S.; KAKIHANA. M.; SUGISHITA. Y. Coronary circulation in dogs with an experimental decrease in aortic compliance. **Journal of American College Cardiology**. v. 21, n.6, p. 1497-1506, 1993.

WACHTELL K, OLSEN M, DAHLOF B, et al. Microalbuminuria in hypertensive patients with electrocardiographic left ventricular hypertrophy: the LIFE study. *J Hypertension*. 2002;20:405-412

WOLF, R., CAMACHO, A. A.; SOUZA, R. C. A. Eletrocardiografia computadorizada em cães. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.6, p.610- 615, 2000. XU et al, 2005.

YAZDI, C. A.; NARMANI, M. R. Visceral Leishmaniasis With Cardiac Involvement In A Three Years Old Boy. **The Internet Journal of Tropical Medicine**. v. 3, n.1, 2003.

ZABALA, E. E.; RAMÍREZ, O. J.; BERMÚDEZ, V. Leishmaniasis visceral en un canino. **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias**, v.46, n.2, p.43-49, 2005.