ANDRÉ LUÍS FERNANDES DOS SANTOS

Dosagem sérica da enzima creatinafosfoquinase-isoenzima MB (CK-MB) e de troponina I (cTnI) de cães eletrocardiograficamente normais e naqueles com desníveis (infra e supra) do segmento ST, utilizando ensaio imunométrico por quimioluminescência

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Clínica Veterinária

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Profª. Dra. Maria Helena Matiko Akao Larsson

São Paulo
2005

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Conferido Resumo, ficha e página
BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ARICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
[Assinatura]
18/2/05

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1481 Santos, André Luís Fernandes dos
FMVZ Dosagem sérica da enzima creatinafosfoquinase-isoenzima MB (CK-MB) e de troponina I (cTnI) de cães eletrocardiograficamente normais e naqueles com desníveis (infra e supra) do segmento ST, utilizando ensaio imunométrico por quimioluminescência / André Luís Fernandes dos Santos. – São Paulo : A. L. F. Santos, 2005.
61 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2005.

Programa de Pós-graduação: Clínica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Maria Helena Matiko Akao Larsson.

1. Troponina I. 2. Creatinafosfoquinase. 3. CK-MB. 4. Cães.
5. Segmento ST. I. Título.

ERRATA

Página	Parágrafo	Linha	Onde se lê	Leia-se
Capa	3	4	Clínica Veterinária	Medicina Veterinária
Página de Rosto	3	4	Clínica Veterinária	Medicina Veterinária
4	Título		APROVAÇÃO	AVALIAÇÃO
4	3	4	mestre em Clínica Veterinária	Mestre em Medicina Veterinária
9	1	4	[Serum determination...	[Serum determination...
9	1	8	(Mestrado em Clínica Médica Veterinária)-Faculdade...	(Mestrado em Medicina Veterinária) -Faculdade...
10	1	4	[Dosagem sérica da ...	[Dosagem sérica da...
10	1	8	(Clínica Médica Veterinária)-Faculdade...	(Medicina Veterinária) - Faculdade...

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Dosagem séria da enzima creatinafosfoquinase-isoenzima MB (CK-MB) de cães eletrocardiograficamente normais e naqueles com desníveis (infra e supra) do segmento ST, utilizando ensaio imunométrico por quimioluminescência" Protocolo nº 238/2002, utilizando 40 cães, sob a responsabilidade da Profª Drª Maria Helena Matiko Akao Larsson, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 11/12/2002.

(We certify that the Research "Serum dosage of the enzyme creatine kinase-isoenzyme MB in dogs with normal electrocardiogram and with ST segment alteration (depression or elevation), by chemoluminescence immunometric assay" protocol number 238/2002, utilizing 40 dogs, under the responsibility of Profª Drª Maria Helena Matiko Akao Larsson, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in 12/11/2002 meeting.)

São Paulo, 12 de dezembro de 2002

Profª Drª Julia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: SANTOS, André Luís Fernandes dos

Título: Dosagem sérica da enzima creatinafosfoquinase-isoenzima MB (CK-MB) e de troponina I (cTnI) de cães eletrocardiograficamente normais e naqueles com desníveis (infra e supra) do segmento ST, utilizando ensaio imunométrico por quimioluminescência.

Dissertação apresentada ao programa de pós graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de mestre em Clínica Veterinária.

Data: ____/____/____

Banca examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Crítica dos animais. – Temo que os animais considerem o homem como um ser de sua espécie que de um modo muito perigoso tenha perdido seu bom senso animal- que o considerem como um animal absurdo, como o animal que ri e que chora, como o animal nefasto.

Nietzsche, 1886

Tenho conhecimento do meu destino. Sei que algum dia o meu nome estará relacionado, em recordação, a algo de terrível, a uma crise como nunca ocorreu, à mais tremenda colisão de consciências, a uma sentença definitiva pronunciada contra tudo aquilo que se acreditava, exigia e santificava até então. Eu não sou um homem, sou uma dinamite.

Nietzsche, 1888

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Antonio e Elza pelo apoio, amor, dedicação e compreensão. Obrigado por acreditarem, apesar das dificuldades enfrentadas, num sonho de infância (de um menino perguntador e tagarela!). Deus os ilumine!

Ao meu irmão Artur e à Luciene por participarem dos meus sonhos e pelas boas risadas!

À minha amada Cristina, que me proporcionou (e proporciona) tantas alegrias e muitas indagações (existenciais e filosóficas!). Eu te amo muito!

Aos tios Noé, Elias e Mêrian por me incentivar em buscar o conhecimento e amar a Ciência.

Aos primos Willians e Angela pelo apoio, respectivamente, na realização do ensino médio e curso pré-vestibular.

À professora Maria Helena pela oportunidade e confiança. Sua tenacidade e profissionalismo me fez amadurecer para seguir a difícil, mas prazerosa, jornada para tornar-me pesquisador e docente. Obrigado por tudo!

Aos meus cães Tina, Kiara, Charlote e Zeus pela alegria dos seus olhos!

AGRADECIMENTOS

À CAPES e ao CNPQ pela outorga da bolsa de mestrado.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação.

À Profa. Dra. Silvia Regina Ricci Lucas, à Sra. Regina Mieko Sakata Mirandola e a todos os funcionários do Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP, pelo auxílio na realização dos exames laboratoriais e torcida pelo êxito deste trabalho.

Ao Dr. Carlos Alberto de Camargo Sannazzaro e Vanda Gutierrez, do Hospital Universitário da USP, por permitirem e auxiliarem nas dosagens de troponina I e CK-MB.

Ao Prof. Dr. Masao Iwasaki e à Silvana Unruh pelos laudos dos exames radiográficos.

À Profa. Dra. Mitika Kuribayashi Hagiwara e ao Léo por permitirem a utilização de alguns animais do canil.

Aos amigos do Serviço de Cardiologia pela amizade, ajuda e incentivo durante a execução deste trabalho.

Ao Mário, Lilian e Guilherme pela realização dos exames ecocardiográficos, auxílio na colheita das amostras e momentos felizes. À Lilian Michima pelo apoio no início deste trabalho.

À Harumi e Adelaide, secretárias da pós-graduação, e às funcionárias da biblioteca pelo auxílio nos trâmites burocráticos.

Aos proprietários dos animais por trazê-los ao nosso hospital e permitirem a colheita das amostras.

RESUMO

SANTOS, A.L.F. Dosagem sérica da enzima creatinafosfoquinase-isoenzima MB (CK-MB) e de troponina I (cTnI) de cães eletrocardiograficamente normais e naqueles com desníveis (infra e supra) do segmento ST, utilizando ensaio imunométrico por quimioluminescência. [Serum determination of creatinephosphokinase-isoenzyme MB (CK-MB) enzyme and of troponin I (cTnI) in electrocardiographic normal dogs and in those with ST deviation (elevation or depression) by a chemiluminescent immunometric assay].2005, 61 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Ao contrário do homem, as cardiopatias de natureza hipóxica/isquêmica são pouco relatadas nos cães. Raros são os relatos de infarto agudo do miocárdio (IAM) nesses espécimes; entretanto, existem achados eletrocardiográficos que indicam hipóxia/isquemia miocárdica, como os desníveis (infra e supra) do segmento ST. Com o intuito de constatar algum dano nas células do miocárdio em condições de má perfusão, utilizaram-se 38 cães, dos quais 20 com traçados eletrocardiográficos normais e 18 com desníveis (infra e supra) do segmento ST, na derivação DII, velocidade de 50 mm/s e sensibilidade N.

Nos animais normais (grupo 1), a dosagem sérica da enzima creatinafosfoquinase isoenzima MB (CK-MB) e da troponina I (cTnI) destinou-se à obtenção dos valores de referência (em ng/mL). Estes valores de referência foram confrontados com os obtidos de cães portadores de desnível (grupo 2), permitindo confirmar ou não a injúria miocárdica. Em relação à CK-MB, os cães do grupo 1 apresentaram média de 0,54 ng/mL e desvio-padrão de 0,89 ng/mL e os do grupo 2 apresentaram média de 0,44 ng/mL e desvio-padrão de 1,106 ng/mL. A média e o desvio-padrão foram, respectivamente, de 0,16 ng/mL e 0,110 ng/mL e de 0,20 ng/mL e 0,111 ng/mL, nos grupos 1 e 2. Houve 18 valores nulos de CK-MB, igualmente distribuídos entre ambos os grupos. O grupo 1 apresentou três valores nulos para cTnI. Houve diferença marcante em relação à idade, sendo o grupo 1 constituído por animais, preponderantemente, abaixo de 7 anos; o contrário ocorreu no grupo 2. São significativas, ao nível de significância de 5%, as associações da variável CK-MB com as variáveis idade, massa e CK-T (creatinafosfoquinase total) no grupo 1, e com a variável CK-T no grupo 2. A variável cTnI não apresentou evidências de associação, ao nível de significância de 5%, com as variáveis idade, massa, CK-T e nível sérico de potássio, para cada um dos níveis da variável grupo. Tanto para a variável CK-MB quanto para a cTnI, não houve diferenças significativas, ao nível de 5%, entre os grupos 1 e 2. Conclui-se que é possível a utilização do “kit” de ensaio imunométrico quimioluminescente humano para a espécie canina e que a hipóxia/isquemia, revelada pelo desnível do segmento ST, não acarreta dano miocárdico, ou que este é mínimo.

Palavras-chave: troponina I, creatinafosfoquinase, CK-MB, cães, segmento ST.

ABSTRACT

SANTOS, A.L.F. Serum determination of creatinephosphokinase-isoenzyme MB (CK-MB) enzyme and of troponin I (cTnI) in electrocardiographic normal dogs and in those with ST deviation (elevation or depression) by a chemiluminescent immunometric assay [Dosagem sérica da enzima creatinafosfoquinase-isoenzima MB (CK-MB) e de troponina I (cTnI) de cães eletrocardiograficamente normais e naqueles com desníveis (infra e supra) do segmento ST, utilizando ensaio imunométrico por quimioluminescência].2005, 61 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Although very often in men, hypoxic and ischemic heart diseases are poorly documented in dogs. There are few reports of acute myocardial infarction (AMI) in this species. However, some electrocardiographic findings may suggest myocardium hypoxia/ischemia, like ST segment elevation or depression.

In order to investigate myocardial cells injury in poor perfusion conditions, 38 dogs, being 20 with normal electrocardiogram and 18 with ST segment elevation or depression in lead II, at a paper speed of 50 mm/sec and N sensibility (1 mV = 1cm), were included.

Serum measurement of creatinephosphokinase isoenzyme MB (CK-MB) enzyme and troponin I (cTnI) in normal dogs (group 1) determined reference values (in ng/mL). These values were compared to those obtained in dogs with deviation (group 2), which allowed confirmation or not of myocardial injury. CK-MB mean values obtained from dogs in groups 1 and 2 was 0,54 ng/mL (SD±0,54 ng/mL) and 0,44 ng/mL (SD±1,106), respectively. Mean cTnI values in groups 1 and 2 was 0,16 ng/mL (SD±0,110 ng/mL) and 0,20 ng/mL (SD±0,111 ng/mL) respectively. Three cTnI null values were found in group 1. There was a marked difference concerning to age, being group 1 composed, mainly, by animals ageing under 7 years, on the contrary of group 2. At a significance level of 5%, was significant the relation of CK-MB with age, mass and total creatinephosphokinase (CK-T) in group 1 and with CK-T in group 2. There is no relation, at a significance level of 5%, of cTnI with age, mass, CK-T or serum potassium concentration, for each level of group variable. Both CK-MB and cTnI variables showed no difference, at 5% level, between groups 1 and 2. In conclusion, it is possible to use the human chemiluminescent immunometric assay kit in canine species and that hypoxia/ischemia revealed by ST segment deviation does not mean significant myocardium injury.

Keywords: troponin I, creatinephosphokinase, CK-MB, dogs, ST segment.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 Animais	25
4.2 Exames radiográficos	25
4.3 Exames eletrocardiográficos	25
4.4 Exames ecocardiográficos	26
4.5 Colheita e processamento das amostras sanguíneas	26
4.5.1 Hemograma	27
4.5.2 Função renal e hepática	27
4.5.3 Potássio	28
4.5.4 CK-T	28
4.5.5 CK-MB e cTnI	28
4.5.5.1 Considerações gerais	29
4.5.5.2 Ensaio para CK-MB	29
4.5.5.3 Ensaio para cTnI	30
5. RESULTADOS	32
5.1 Análise estatística	39

5.1.1 Análise descritiva	40
5.1.2 Análise inferencial	48
5.1.2.1 Variável resposta CK-MB	49
5.1.2.2 Variável resposta cTnI	51
6. DISCUSSÃO	54
7. CONCLUSÕES	57
8. REFERÊNCIAS	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Identificação dos animais clínica e eletrocardiograficamente normais (grupo1), segundo definição racial , sexo, idade e peso corpóreo. São Paulo-2005.

Tabela 2-Identificação dos animais com desníveis do segmento ST (grupo 2), segundo definição racial, sexo, idade e peso corpóreo. São Paulo-2005.

Tabela 3-Valores de CK-T, CK-MB (massa), cTnI e potássio dos animais clínica e eletrocardiograficamente normais (grupo 1). São Paulo-2005.

Tabela 4-Valores de CK-T, CK-MB (massa), cTnI e potássio dos animais com desníveis do segmento ST (grupo 2). São Paulo-2005.

Tabela 5-Descrição de alguns parâmetros eletrocardiográficos de cães clínica e eletrocardiograficamente normais (grupo 1).São Paulo-2005.

Tabela 6-Descrição de alguns parâmetros eletrocardiográficos dos cães com desnível do segmento ST (grupo 2). São Paulo-2005

Tabela 7-Tabela de frequência para a variável idade pela variável grupo-São Paulo-2005

Tabela 8-Tabela de frequência das variáveis sexo e raça pela variável grupo-São Paulo-2005

Tabela 9-Medidas resumo da variável CK-MB e cTnI, nos dois grupos-São Paulo-2005

Tabela 10-Tabela de frequência de valores nulos na variável CK-MB por grupo-São Paulo-2005

Tabela 11-Medidas resumo da variável CK-MB e cTnI pela variável grupo-São Paulo-2005

Tabela 12-Tabela de frequência de valores nulos na variável cTnI por grupo-São Paulo-2005

Tabela 13-Intervalo de confiança de 95% para a proporção imprecisos na variável resposta CK-MB-São Paulo-2005

Tabela 14-Intervalo de confiança de 95% para a proporção de dados imprecisos na variável resposta cTnI-São Paulo-2005

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1**-Histogramas da variável idade pela variável grupo-São Paulo-2005
- Gráfico 2**-Histogramas da variável CK-T pela variável grupo-São Paulo-2005
- Gráfico 3**-Histogramas da variável peso corpóreo pela variável grupo-São Paulo-2005
- Gráfico 4**-Boxplot da variável CK-MB, nos dois grupos-São Paulo-2005
- Gráfico 5**-Histogramas da variável CK-MB pela variável grupo-São Paulo-2005
- Gráfico 6**-Boxplot da variável CK-MB pela variável grupo-São Paulo-2005
- Gráfico 7**-Diagrama de dispersão da variável CK-MB pela variável peso corpóreo, por grupo-São Paulo-2005
- Gráfico 8**-Diagrama de dispersão da variável CK-MB pela variável CK-T, por grupo-São Paulo-2005
- Gráfico 9**-Boxplot da variável cTnI, nos dois grupos – São Paulo- 2005
- Gráfico 10**-Histogramas da variável cTnI pela variável grupo-São Paulo-2005
- Gráfico 11**-Boxplot da variável cTnI pela variável grupo-São Paulo-2005

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Descrição de alguns parâmetros ecocardiográficos de cães clínica e eletrocardiograficamente normais (grupo 1). São Paulo-2005

Quadro 2-Resultado do teste de comparação de proporções de dados imprecisos na variável CK-MB entre os grupos-São Paulo-2005

Quadro 3-Resultado do teste FBST para a comparação de proporções de dados imprecisos na variável CK-MB entre os grupos-São Paulo-2005

Quadro 4-Resultado do Teste Exato de Fisher para a primeira categorização da parte contínua da variável CK-MB, segundo os grupos-São Paulo-2005

Quadro 5-Resultado do teste de comparação de proporções de dados imprecisos na variável cTnI entre os grupos com desnível e normal-São Paulo-2005

Quadro 6-Resultado do teste FBST para comparação de proporções de dados imprecisos na variável cTnI para os Grupos-São Paulo-2005

Quadro 7-Resultado do Teste Exato de Fisher para a primeira categorização da parte contínua da variável cTnI, segundo os grupos-São Paulo-2005

Quadro 8-Resultado do Teste Exato de Fisher para a segunda categorização da parte contínua da variável cTnI, segundo os Grupos-São Paulo-2005

1. INTRODUÇÃO

Os estudos relacionados à hipóxia miocárdica em cães são, na sua grande maioria, experimentais. Nestes estudos, a condição de má perfusão é obtida interrompendo-se o fluxo coronariano, por meio de toracotomia e pinças hemostáticas. A dosagem da CK-MB (creatinafosfoquinase-isoenzima MB) é realizada determinando-se a atividade enzimática, por meio de eletroforese para a separação da isoenzima MB (fração da CK total).

Ensaio imunométrico utilizando anticorpos monoclonais (incluindo-se a quimioluminescência) aumentaram a especificidade dos testes para a detecção de lesão da célula miocárdica (RAMOS e MAGALHÃES, 2002).

Na literatura não há relatos de estudos clínicos, em cães, utilizando “kits” imunométricos quimioluminescentes para detectar CK-MB no soro ou plasma. O contrário ocorre com a cTnI, que foi mensurada em cães e gatos normais (SLEEPER et al., 2001); porém, não se realizou, ainda, dosagem sérica de cTnI em cães apresentando desníveis do segmento ST.

Pelos motivos supra-citados, procedeu-se à mensuração de CK-MB e cTnI em cães hígidos e naqueles com desnível do segmento ST (infra e supra), com o intuito de preencher a lacuna existente na literatura médico-veterinária e estabelecer um método laboratorial, não invasivo, que permita o monitoramento da integridade da célula miocárdica.

2. OBJETIVOS

O presente estudo teve por objetivos:

- demonstrar a aplicabilidade de “kit” de ensaio imunométrico por quimioluminescência humano na espécie canina;
- determinar os valores da CK-MB e cTnI em cães normais, a fim de obter os valores de referência;
- dosar a CK-MB e cTnI em animais que apresentam desníveis (infra e supra) do segmento ST (infradesnível superior a 0,2 mV e supradesnível superior a 0,15mV) ao exame eletrocardiográfico, com o intuito de detectar possível dano miocárdico;
- estabelecer o diagnóstico diferencial entre hipóxia/isquemia miocárdica e hiper/hipopotassemia.

3. REVISÃO DE LITERATURA

Anualmente, milhares de pessoas no mundo sucumbem devido a cardiopatias das mais diversas etiologias. O infarto agudo do miocárdio (IAM) é uma afecção comum, que pode ser prevenida com mudanças no modo de vida, como evitar alimentos ricos em colesterol, exercitar-se regularmente e adotar condutas para minimizar o estresse. O sintoma típico do IAM é a “dor no peito”, que irradia para braços e costas. Indivíduos com estes sintomas são monitorados, eletrocardiograficamente, bem como por meio da dosagem sérica da enzima creatinafosfoquinase, isoenzima MB (CK-MB), presente no coração e é um marcador de isquemia/hipóxia miocárdica (BRAUNWALD e SOBEL, 1991). Os marcadores são de extrema valia no diagnóstico de lesão miocárdica, mesmo naquelas que acometem áreas diminutas do músculo cardíaco (25% do total dos IAM) (FENG et al., 1998). A CK-MB, do miocárdio, corresponde de 2 a 15% da CK total, e sua atividade sérica corresponde de 5 a 15% da atividade enzimática total (AKTAS et al., 1994).

Entende-se por hipóxia miocárdica a insuficiente oxigenação do músculo cardíaco (ROBBINS et al., 1994), apesar da perfusão adequada (BRAUNWALD e SOBEL, 1991), enquanto que isquemia é a privação de oxigênio, acompanhada de uma inadequada remoção dos metabólitos (BRAUNWALD e SOBEL, 1991).

Durante a hipóxia há liberação de enzimas para a circulação sanguínea (LOEGERING e CRITZ, 1971) sendo, no caso da hipóxia/infarto do miocárdio, a creatinafosfoquinase (CK) que cataliza a reação reversível:

creatina + ATP $\rightleftharpoons$ fosfocreatina + ADP, denominada Reação de Lohman (LANOT et al., 1989; SHARKEY et al., 1989; KITAGAWA et al., 1991; AKTAS et al., 1993; BOTTOMLEY e WEISS, 2001).

A CK é uma molécula dimérica com 381 aminoácidos, constituída por duas sub-unidades, M e B, que têm a mesma massa, porém imunologicamente distintas e sintetizadas por dois genes diferentes (LANOT et al., 1989; AKTAS et al., 1993), tendo 282 resíduos de cisteína, necessários para sua atividade catalítica (AKTAS et al., 1993). Existem três isoenzimas: CK-MM, presente no músculo estriado; CK-BB, predominante no cérebro e aparelho digestório; CK-MB, presente no tecido cardíaco e, também, nos rins, intestinos e pulmões (LANOT et al., 1989; AKTAS et al., 1993).

O controle da síntese da CK é pouco compreendido; relata-se que, no miocárdio dos cães, a anóxia de curta duração causa o aumento da concentração do RNA mensageiro para a síntese da sub-unidade B, resultando num aumento de 35 a 100% da atividade sérica da CK-MB (AKTAS et al., 1993), sendo esta utilizada para o diagnóstico do infarto agudo do miocárdio, induzido experimentalmente, em cães (AHMED et al., 1976; LANOT et al., 1989; AKTAS et al., 2001).

A similaridade morfológica e fisiológica entre os corações humano e canino faz com que os cães sejam utilizados como modelos experimentais para doenças e injúrias cardíacas; porém, a distribuição da CK-MB é diferente: no miocárdio de cães hígidos, concentra-se mais no ventrículo direito e, no do homem, no ventrículo esquerdo (VOSS et al., 1995); entretanto as CK-MB do homem e dos cães são imunologicamente idênticas (LANOT et al., 1989).

Em pacientes infartados, a CK-MB eleva-se entre quatro a 12 horas do início do “angor pectoris” e o nível sérico retorna aos valores basais em 48 a 72 horas (RAMOS e MAGALHÃES, 2002). Segundo RICCHIUTI et al. (1998), a liberação sérica de CK-MB em cães, com oclusão experimental das coronárias, é semelhante à liberação desta enzima durante o IAM no homem (1998).

A determinação da atividade ou massa da CK-MB e cTnI pode ser realizada no soro ou plasma heparinizado (AKTAS, et al., 1994), sendo que a hemólise e a hiperbilirrubinemia podem resultar em falsos aumentos séricos da CK-MB, o mesmo não ocorrendo em soros lipêmicos (AKTAS et al., 1993).

Nos cães, o aumento da atividade sérica da CK-MB ocorre no comprometimento miocárdico secundário à parvovirose, dirofilariose, endocardite e cardiomiopatia hipertrófica (AKTAS et al., 1993) e o inverso é observado na cardiomiopatia dilatada dos Dobermans (O'BRIEN, 1997).

Embora a CK-MB consistir no “padrão ouro” no diagnóstico da lesão miocárdica, não se pode ignorar o fato dela estar presente em outros órgãos, causando diminuição de sua especificidade (RAMOS e MAGALHÃES, 2002).

As isoenzimas variantes de CK, denominadas macro-CK tipo I e II, são causa comum de resultados falsos positivos nas mensurações da atividade sérica da CK-MB. A macro-CK tipo I é freqüente em mulheres idosas, enquanto que a macro-CK tipo II em indivíduos com cirrose hepática e doença metastática (CAMAROZANO e HENRIQUES, 1996; RICCHIUTI et al., 1998; RAMOS e MAGALHÃES, 2002).

Outro marcador de injúria miocárdica muito utilizado, atualmente, são as troponinas. Estas foram reconhecidas como marcadoras de lesão miocárdica a partir dos

anos 70. Assim, em 1971, descreveram-se três componentes do complexo troponina: as troponinas C (TnC), I (TnI) e T (TnT). O complexo troponina regula a interação actina-miosina nos músculos estriados (esquelético e cardíaco) e, portanto, tem papel no acoplamento eletromecânico desta musculatura, não sendo encontradas na musculatura lisa (LOBETTI et al., 2002; RAMOS e MAGALHÃES, 2002; SCHOBBER et al., 2002;).

A cTnT e cTnI são expressas somente no miocárdio. Estão ligadas ao aparato contrátil, mas há uma pequena quantidade livre no citoplasma, permitindo uma liberação precoce durante a lesão miocárdica (RAMOS e MAGALHÃES, 2002; SCHOBBER et al., 2002). Do total de cTnT e cTnI apenas 6 a 8% e 2,8 a 4,1%, respectivamente, encontram-se no citoplasma (RAMOS e MAGALHÃES, 2002).

A liberação de troponinas na circulação sanguínea ocorre pela dissociação do aparelho contrátil e relaciona-se à lesão irreversível na célula miocárdica, apresentando, na circulação, meia-vida de duas horas, sendo excretadas pelos rins (RAMOS e MAGALHÃES, 2002).

Sabe-se, segundo FENG et al. (1998), que não há aumento nos níveis séricos de cTnI em indivíduos apresentando doença muscular crônica e na insuficiência renal.

Valores de CK-MB elevados em indivíduos com níveis séricos de uréia e creatinina normais e com níveis séricos de cTnT e/ou cTnI menores que 0,1 ng/mL, devem ser considerados de origem não cardíaca (RAMOS e MAGALHÃES, 2002).

Cães e gatos normais podem não apresentar cTnI e cTnT na circulação, mas alguns animais normais podem apresentar traços, isto é, quantidade geralmente inferior a 0,1ng/mL (SCHOBBER et al., 2002).

A cTnT mantém-se elevada, na circulação, por 10 a 14 dias e a cTnI por sete a 10 dias e são mais eficientes na detecção de lesões miocárdicas mínimas (RAMOS e MAGALHÃES, 2002). A cTnI possui sensibilidade e especificidade superiores à cTnT (SLEEPER et al., 2001), pois não há expressão do gene para a produção de cTnI em fetos e nas doenças da musculatura esquelética (O'BRIEN et al., 1997).

A estrutura das troponinas cardíacas é altamente preservada nos cães e no homem (SCHOBBER et al., 2002). Os genes que codificam cTnI foram seqüenciados e clonados nas espécies canina e felina e observou-se uma semelhança de 95 e 96%, respectivamente, em relação aos mesmos genes no homem (RISHNIW et al., 2004). Este fato ratifica o uso de imunoensaios, utilizando anticorpo monoclonal humano, no diagnóstico de lesão cardíaca em cães e gatos (RICCHIUTI et al., 1998; RISHNIW et al., 2004). As pesquisas utilizando cães não demonstraram alterações na seqüência gênica responsável pela síntese de cTnT, entretanto naqueles com anormalidades no desenvolvimento do músculo cardíaco e esquelético são sugeridas falhas nos fatores regulatórios (BIESIADECKI, 2002).

Nos últimos anos, houve grande desenvolvimento de metodologias de ensaios analíticos baseados no princípio da quimioluminescência, que ocorre na oxidação de certas moléculas (WEEKS, 1997). A oxidação gera produtos em estado eletrônico excitado e estes, conseqüentemente, emitem luz (WEEKS, 1997; FEITOSA et al., 2002). A quimioluminescência pode ocorrer em gases, líquidos e nas interfaces gás/líquido e gás sólido (CAMPBELL, 1988; WEEKS, 1997; FEITOSA et al., 2002). Há quatro fatores caracterizadores de uma reação quimioluminescente: o espectro de emissão de luz (se é ou não visível), onde ocorre (gás, líquido ou nas interfaces), se é orgânica ou

inorgânica e a existência ou necessidade de um receptor da energia do produto excitado (CAMPBELL, 1988; FEITOSA et al., 2002). A eficiência da emissão de luz de uma molécula quimioluminescente é expressa pelo rendimento quântico da quimioluminescência (f_{CL}), descrevendo o número total de fótons emitidos/número de moléculas reagentes: $f_{CL}=f_C+f_E+f_F$, onde f_C , f_E e f_F são, respectivamente, os rendimentos químico, das moléculas em estado eletronicamente excitado, e quântico da fluorescência (WEEKS, 1997).

A doença miocárdica isquêmica não é considerada causa primária importante de morbidade e mortalidade em cães, mas contribui para a disfunção e sintomas associados ou não a cardiopatias (JUBB et al., 1985; THOMAS, 1987; FOX, 1992). A aterosclerose é rara nos cães e quando ocorre está associada ao hipotireoidismo não controlado; porém hipóxia/isquemia, com conseqüente infarto, é comum, em decorrência de embolismo coronariano (endocardite infecciosa, particularmente da valva aórtica), septicemia e neoplasia pulmonar (THOMAS, 1987). Cães apresentando a síndrome dilatação-torção gástrica freqüentemente desenvolvem arritmias ventriculares (extra-sístoles e taquicardia ventricular), que podem ocasionar isquemia focal e necrose miocárdica; o mesmo ocorre na pancreatite aguda (FOX, 1992; HERNDON et al., 2002). Cardiopatias que evoluem para insuficiência cardíaca congestiva (cardiomiopatias dilatada, hipertrófica, restritiva e endocardiose mitral e/ou tricúspide) causam hipóxia/isquemia do músculo cardíaco e, conseqüentemente, induzem à liberação de cTnI na circulação (WYATT et al., 1998; HERNDON et al., 2002; SCHOBBER et al., 2002).

O segmento ST representa o intervalo de tempo (em segundos) entre o final do complexo QRS e o início da onda T, ou seja, final da despolarização e início da

repolarização ventricular, respectivamente. Estudos multicêntricos demonstraram que 9,4% das pessoas apresentando síndrome coronariana aguda e supradesnível do segmento ST vinham a óbito; este percentual era de 10,5% em associação com o infradesnível e de 12,4% quando o infra e o supra ocorriam no mesmo traçado (MOFFA e SANCHES, 2001). O infradesnível do segmento ST é uma depressão igual ou superior a 0,2 milivolts (mV) e o supradesnível uma elevação de 0,15 milivolts (mV), em relação à linha base; quando presente nas derivações II, III, aVF e CV₆LU, ou naquelas com onda R dominante, podem indicar (TILLEY, 1992; SCHOBBER et al., 2002):

- hipóxia/isquemia miocárdica;
- infarto agudo do miocárdio;
- hipercalemia ou hipocalemia;
- trauma cardíaco.

Os distúrbios eletrolíticos, especialmente os relacionados ao cátion potássio, podem causar alterações na morfologia do segmento ST (TILLEY, 1992). São causas de hiperpotassemia a insuficiência renal aguda, ruptura vesical, obstrução uretral, trauma muscular, intoxicação digitálica e altas dosagens de diuréticos poupadores de potássio (TILLEY e JUNIOR, 2003); a hipopotassemia tem como causas a insuficiência renal crônica, administração excessiva de mineralocorticóides, êmese e quadros diarreicos severos e a administração, de altas doses e por período prolongado, dos diuréticos de alça (TILLEY e JUNIOR, 2003).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados 38 cães (machos ou fêmeas), com ou sem definição racial, pesos corpóreos variados, que foram divididos em dois grupos, a saber:

grupo 1: constituído por 20 cães clínica e eletrocardiograficamente normais;

grupo 2: constituído por 18 cães apresentando desníveis (infra e supra) do segmento ST.

Os cães utilizados eram provenientes do Serviço de Cardiologia do Hospital Veterinário da Universidade de São Paulo (HOVET-USP). Cães sabidamente portadores de neoplasia, gastrenterite, dermatopatias e miopatias não foram incluídos no projeto, pois estas afecções podem causar aumentos séricos da CK-MB em ausência de hipóxia/isquemia miocárdica; pelo mesmo motivo foram excluídos os cães que freqüentavam, periodicamente, regiões litorâneas devido ao risco de infecção pela *Dirofilaria immitis*.

4.2 Exames radiográficos

Foram realizados no aparelho de radiodiagnóstico CGR, modelo Chenonceaux, de 600mA e 130Kv, com mesa radiológica com grade e sistema “Potter-Buck” recipromático tipo “Par Speed”, ampola de raios-X de anodo giratório. Os filmes foram revelados e fixados na processadora automática RP-OMAT Processor Kodak.

O exame radiográfico foi realizado em três projeções: látero-lateral direita, látero-lateral esquerda e ventro dorsal.

4.3 Exames eletrocardiográficos

Foram realizados em eletrocardiógrafo Ecafíx modelo E.C.G.-6 ou Schiller modelo AT-1v, com os animais posicionados em decúbito lateral direito, sobre superfície isolante. Realizaram-se as derivações bipolares D_I, D_{II}, D_{III} e as unipolares aumentadas aVR, aVL e aVF, além das derivações pré-cordiais CV₅RL, CV₆LL, CV₆LU e V₁₀, segundo TILLEY (1992).

4.4 Exames ecocardiográficos

Foram realizados em aparelho de ultra-sonografia Hitachi modelo EUB 515-A, com transdutor de 5 MHz, microconvexo. A impressora utilizada foi a SONY modelo UP 890-CE. Foram mensurados e calculados os seguintes parâmetros no modo M, segundo as especificações e valores de referência de BONAGURA (1983), BOON (1998) e MOÏSE e FOX (1999) :

- dimensão da cavidade do ventrículo esquerdo no final da sístole (DSVEs);
- espessura da parede livre do ventrículo esquerdo na diástole (Epd);
- espessura do septo interventricular em diástole (ESd);
- fração de encurtamento (FE), calculada através da fórmula $(DVEd - DVEs) \times 100 / DVEd$;
- raiz da aorta (Ao);
- diâmetro do átrio esquerdo (AE);
- relação entre Ao e AE.

4.5 Colheita e processamento das amostras sanguíneas

As amostras de sangue foram colhidas por meio da punção das veias radial e/ou safenas e/ou jugulares (direitas ou esquerdas), utilizando agulhas e seringas descartáveis e tubos siliconizados, providos de rolha de borracha (Vacutainer®), com capacidade

para 4 ml. Utilizaram-se tubos contendo EDTA-K₂ (3,6mg), como anticoagulante, para a realização do hemograma e tubos, sem anticoagulante, para os exames de bioquímica sérica, CK-MB e cTnI.

Após a realização da colheita (10mL de cada animal), o sangue era centrifugado a 1500g, durante 10 minutos. O soro para dosagem de CK-MB (massa) e cTnI foi armazenado à -20°C até, no máximo, 30 dias após a colheita. A dosagem sérica de potássio foi efetuada em, no máximo, 24 horas e o armazenamento idêntico ao das amostras para a dosagem de CK-MB (massa) e cTnI.

Hemograma, funções renal e hepática, determinação sérica de potássio e CK-T foram realizados no Laboratório Clínico do HOVET-USP, enquanto que as mensurações de CK-MB e cTnI foram realizadas no Laboratório Clínico do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU-USP).

4.5.1 Hemograma

As contagens globais de hemácias e leucócitos e a determinação da hemoglobina foram realizadas utilizando-se o sistema automatizado Sero no modelo System 9020 AX.

O hematócrito foi determinado pela técnica do microhematócrito, em centrífuga Celm modelo MH, e a contagem diferencial dos leucócitos realizada ao microscópio óptico Carl Zeiss Jenamed, em esfregaços de sangue “in natura”, corados pelo Rosenfeld.

4.5.2 Funções renal e hepática

A avaliação das funções renal e hepática foi realizada no analisador bioquímico automático Technicon-Bayer, modelo RA-100, sendo que a função renal foi avaliada por

meio das dosagens séricas de uréia, pelo método colorimétrico da urease, e de creatinina, pelo método cinético.

A função hepática foi avaliada por meio da determinação sérica da fosfatase alcalina (método cinético colorimétrico), aspartato e alanino aminotransferases (método cinético em ultra-violeta), proteína total e albumina.

Os resultados das funções renais e hepáticas foram determinados pelo analisador bioquímico automático Technicon-Bayer, modelo RA-100.

4.5.3 Potássio

A dosagem de potássio sérico foi realizada pela técnica do eletrodo íon seletivo, utilizando-se o analisador OMNI-4.

4.5.4 CK-T

Mensurada por meio de reações químicas em série, envolvendo as enzimas hexoquinase (HQ) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6FD), a partir da velocidade de formação do NADPH, medido a 340nm, determinada no analisador bioquímico automático Technicon-Bayer, modelo RA-100 (BYOSYSTEMS, 2000), conforme se segue:

4.5.5 CK-MB e cTnI

4.5.5.1 Considerações gerais

Existem vários métodos analíticos que utilizam o princípio da quimioluminescência, porém, o método imunoenzimático amplificado é, atualmente, o mais indicado na rotina laboratorial e, conhecido, comercialmente como Immulite® (DPC Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA) (BABSON, 1991; FEITOSA et al., 2002).

Princípio do sistema Immulite® (não competitivo), segundo FEITOSA et al. (2002):

- 1) unidade teste: pérola revestida com anticorpo monoclonal ou policlonal específico para a substância a ser dosada. Adiciona-se o soro ou plasma do paciente e incuba-se, à 37°C, durante 30 minutos sob agitação intermitente;
- 2) a substância a ser dosada liga-se aos sítios ligantes do anticorpo da pérola;
- 3) o restante do soro é removido, por centrifugação, para a porção coaxial da unidade teste;
- 4) adiciona-se um anticorpo monoclonal ou policlonal para a substância que será dosada, marcado com fosfatase alcalina;
- 5) Adiciona-se o substrato quimioluminescente (éster fosfato adamantil dioxetano), incuba-se por 10 minutos e realiza-se a leitura no luminômetro.

4.5.5.2 Ensaio para CK-MB (DPC, 2002):

- 1) unidade teste: pérola revestida com anti-ligante (avidina). Adiciona-se o soro do paciente (50µL) e incuba-se, à 37°C, durante 30 minutos sob agitação intermitente;

- 2) adiciona-se 6,5 ml do reagente constituído por dois tipos de anticorpos monoclonais murinos: um anti-CK-MB marcado com um ligante (biotina), que se ligará à avidina da pérola, e outro anti-CK-BB tamponizado e marcado com fosfatase alcalina;
- 3) a CK-MB e CK-BB do soro ligar-se-ão aos respectivos anticorpos;
- 4) adiciona-se o substrato quimioluminescente (éster fosfato adamantil dioxetano), incuba-se por 10 minutos e realiza-se a leitura no luminômetro (CK-BB mensurada e CK-MB mensurada indiretamente, através de equações matemáticas);
- 5) algumas características do ensaio: a) calibração: até 500 ng/mL; b) sensibilidade analítica: 0,42 ng/mL; especificidade: o anticorpo é específico para CK-MB, com reatividade cruzada baixa em relação as outras isoenzimas; c) bilirrubina: causa depressão nos valores mensurados; d) hemólise: a presença de eritrócitos na concentração de até 30 µg/mL não altera a precisão do ensaio.

4.5.5.3 Ensaio para cTnI (DPC, 2002):

- 1) unidade teste: pérola revestida com anticorpo monoclonal de rato anti-troponina I. Adiciona-se o soro do paciente (50µL) e incuba-se, à 37°C, durante 30 minutos sob agitação intermitente;
- 2) a cTnI liga-se ao anticorpo da pérola;
- 3) o restante do soro é removido, por centrifugação, para a porção coaxial da unidade teste;

- 4) adiciona-se 6,5 mL de fosfatase alcalina, de intestino de vitelo, conjugada ao anticorpo policlonal de cabra anti-troponina I tamponizada;
- 5) adiciona-se o substrato quimioluminescente (éster fosfato adamantil dioxetano), incuba-se por 10 minutos e realiza-se a leitura no luminômetro;
- 6) algumas características do ensaio: a) calibração: até 180 ng/ml; b) sensibilidade analítica: 0,1 ng/mL; c) especificidade: específico para cTnI; d) bilirrubina no soro: causa depressão nos valores mensurados; e) hemólise: até 570 ng/mL não altera a precisão do ensaio; lipemia: até 5000 ng/mL não altera a precisão do ensaio.

5. RESULTADOS

Os resultados obtidos são apresentados sob forma de tabelas e quadros. Hemograma, função renal, função hepática e exames radiográfico do tórax dos animais do grupo 1 apresentaram-se dentro dos padrões de normalidade (MEYER e HARVEY, 1998; TILLEY e JUNIOR, 2003).

Tabela 1- Identificação dos animais clínica e eletrocardiograficamente normais (grupo1), segundo definição racial , sexo, idade e peso corpóreo. São Paulo-2005.

Número	Definição racial*	Sexo**	Idade (anos)	Massa(Kg)
1	SRD	F	2	14,70
2	SRD	M	2	6,20
3	SRD	F	3	20,40
4	SRD	F	2	10,30
5	SRD	M	6	21,30
6	CRD (Poodle toy)	F	6	7,00
7	CRD (Poodle toy)	F	6	4,20
8	SRD	M	2	10,20
9	CRD (Poodle toy)	M	6	8,20
10	CRD (Labrador)	F	3	31,80
11	CRD (Pastor Belga)	M	7	24,20
12	CRD (Teckel)	M	2	12,40
13	SRD	F	3	24,70
14	SRD	M	5	19,00
15	SRD	F	2	21,80
16	SRD	M	3	16,60
17	SRD	M	3	19,00
18	SRD	M	2	12,00
19	SRD	M	2	17,40
20	SRD	M	3	15,40

*CRD: com raça definida; SRD: sem raça definida

**M: macho; F: fêmea

Tabela 2-Identificação dos animais com desníveis do segmento ST (grupo 2), segundo definição racial, sexo, idade e peso corpóreo. São Paulo-2005.

Número	Definição racial*	Sexo**	Idade (anos)	Massa(Kg)
1	CRD (Poodle)	M	10	7,7
2	SRD	M	16	5,9
3	CRD (Cocker Spaniel)	F	3	10,0
4	CRD (Poodle toy)	M	8	2,8
5	CRD (Dobermann)	M	9	26,0
6	CRD (Poodle)	M	12	15,2
7	CRD (Yorkshire)	F	9	3,2
8	CRD (Poodle)	M	8	10,7
9	CRD (Terrier Brasileiro)	F	11	15,3
10	CRD (Poodle)	M	14	4,8
11	CRD (Teckel)	M	11	5,6
12	CRD (Poodle toy)	M	11	2,6
13	CRD (Poodle toy)	F	1	2,4
14	CRD (Terrier Brasileiro)	M	4	11,4
15	CRD (Cocker Spaniel)	F	11	14,0
16	SRD	F	12	10,8
17	CRD (Teckel)	M	9	11,2
18	CRD (Cocker Spaniel)	F	7	12,0

*CRD: com raça definida; SRD: sem raça definida

**M: macho; F: fêmea

Tabela 3-Valores de CK-T, CK-MB (massa), cTnI e potássio dos animais clínica e eletrocardiograficamente normais (grupo 1). São Paulo-2005.

Número	CK-T (U/L)	CK-MB(ng/mL)	cTnI (ng/mL)	Potássio (mmol/L)
1	83,74	0,85	0,28	4,12
2	142,85	0,86	0,07	4,36
3	169,38	0,39	<0,20	4,50
4	88,90	<0,50	<0,20	4,04
5	471,66	0,76	0,07	4,88
6	190,07	1,20	0,43	4,99
7	312,91	1,90	0,27	4,56
8	88,68	0,04	<0,20	5,05
9	203,50	3,60	0,16	4,76
10	60,21	<0,50	0,05	3,99
11	159,55	<0,50	0,15	4,02
12	88,01	0,25	0,15	4,39
13	72,68	<0,50	0,12	4,39
14	125,95	0,75	0,22	4,55
15	68,79	0,16	0,09	4,39
16	140,82	<0,50	0,19	3,90
17	7,99	<0,50	0,24	3,95
18	113,81	<0,50	0,23	4,64
19	164,91	<0,50	0,23	4,22
20	101,92	<0,50	0,17	4,52

Tabela 4-Valores de CK-T, CK-MB (massa), cTnI e potássio sérico dos animais com desníveis do segmento ST (grupo 2). São Paulo-2005.

Número	CK-T (U/L)	CK-MB(ng/mL)	cTnI (ng/mL)	Potássio (mmol/L)
1	51,46	<0,50	0,13	4,56
2	82,86	<0,50	0,03	4,18
3	10,31	0,42	0,24	5,16
4	178,09	<0,50	0,52	4,41
5	187,34	0,33	0,33	3,96
6	10,37	0,02	0,26	5,75
7	67,03	<0,50	0,24	5,10
8	187,65	<0,50	0,15	4,04
9	62,86	0,06	0,05	4,77
10	295,38	0,64	0,22	5,01
11	79,53	0,65	0,20	4,76
12	463,98	4,70	0,18	4,79
13	115,63	1,00	0,14	3,94
14	43,79	<0,50	0,31	3,98
15	150,50	0,03	0,15	5,15
16	58,17	<0,50	0,15	5,07
17	221,54	<0,50	0,14	4,20
18	38,96	<0,50	0,19	4,42

Tabela 5-Descrição de alguns parâmetros eletrocardiográficos de cães clínica e eletrocardiograficamente normais (grupo 1).São Paulo-2005.

ANIMAL	FC ⁽¹⁾	RITMO CARDÍACO	EIXO	DERIVAÇÃO DII						PRÉ-CORDIAIS
				ONDA P ⁽⁴⁾	PR ⁽⁵⁾	QRS ⁽⁶⁾	QT ⁽⁷⁾	ST ⁽⁸⁾	ONDA T ⁽¹⁰⁾	
1	80	AS ⁽³⁾	+60°a+90°	0,03 / 0,20	0,10	0,03 / 2,00	0,17	N ⁽⁹⁾	(-) <25%R	⁽¹¹⁾ NDN
2	100	AS	+60°a+90°	0,03 / 0,25	0,10	0,04 / 1,60	0,18	N	(-) <25%R	NDN
3	120	AS	+60° a +90°	0,02 / 0,03	0,10	0,04 / 1,40	0,17	N	(-) <25%R	NDN
4	160	RSN ⁽²⁾	+60° a +90°	0,03 / 0,15	0,08	0,03 / 1,10	0,18	N	(-) >25%R	NDN
5	160	RSN	+60° a +90°	0,03 / 0,30	0,10	0,04 / 1,40	0,16	N	(-) <25%R	NDN
6	170	AS	+30° a +60°	0,03 / 0,35	0,07	0,03 / 2,50	0,12	N	(-) <25%R	NDN
7	180	AS	+30° a +60°	0,02 / 0,40	0,06	0,03 / 1,80	0,14	N	(-) <25%R	NDN
8	90	AS	+60° a +90°	0,03 / 0,10	0,10	0,03 / 1,70	0,20	N	(+) <25%R	NDN
9	160	RSN	+30° a +60°	0,02 / 0,35	0,08	0,04 / 1,70	0,14	N	(-) <25%R	NDN
10	140	RSN	+60° a +90°	0,04 / 0,30	0,08	0,06 / 1,40	0,16	N	(-) <25%R	NDN
11	120	RSN	+60° a +90°	0,04 / 0,20	0,09	0,04 / 1,30	0,15	N	(-) <25%R	NDN
12	160	AS	+60° a +90°	0,03 / 0,25	0,06	0,03 / 1,50	0,14	N	(+) <25%R	NDN
13	140	RSN	+90°	0,03 / 0,15	0,10	0,05 / 1,20	0,18	N	(-) <25%R	NDN
14	160	AS	+30° a +60°	0,03 / 0,30	0,08	0,04 / 0,70	0,18	N	(-) <25%R	NDN
15	120	RS	+60° a +90°	0,03 / 0,10	0,10	0,04 / 2,10	0,18	N	(b) <25%R	NDN
16	120	AS	+60° a 90°	0,03 / 0,20	0,09	0,05 / 1,60	0,18	N	(-) <25%R	NDN
17	120	RSN	+30° a +60°	0,03 / 0,15	0,09	0,05 / 0,90	0,17	N	(-) >25%R	NDN
18	140	AS	+30° a +60°	0,04 / 0,25	0,09	0,05 / 1,00	0,10	N	(+) <25%R	NDN
19	120	AS	+30° a +60°	0,04 / 0,20	0,10	0,04 / 1,60	0,18	N	(-) <25%R	NDN
20	160	RSN	+60° a +90°	0,03 / 0,10	0,07	0,03 / 1,00	0,16	N	(-) <25%R	NDN

(1) Frequência cardíaca, em batimentos por minuto (bpm)

(2) Ritmo sinusal normal

(3)Arritmia sinusal com marcapasso migratório

(4) Onda P: duração mensurada em segundos (s) e amplitude em milivolts (mV), respectivamente

(5) intervalo PR: duração mensurada em segundos (s)

(6) Complexo QRS: duração mensurada em segundos (s) e amplitude em milivolts (mV) , respectivamente

(7) Intervalo QT, duração mensurada em segundos (s)

(8) Segmento ST, avaliado em relação à linha base, em milivolts (mV)

(9) Normal, sem infra ou supradesnivelamento em relação à linha base

(10) Onda T, verificada sua polaridade, se positiva (+), negativa (-) ou (b) bifásica e mensurada a amplitude em milivolt (mV) se maior (>) ou menor (<) que 25% de R

(11) NDN- nada digno de nota

Tabela 6-Descrição de alguns parâmetros eletrocardiográficos dos cães com desnível do segmento ST (grupo 2). São Paulo-2005

ANIMAL	FC ⁽¹⁾	RITMO CARDÍACO	EIXO	DERIVAÇÃO DII						PRÉ-CORDIAIS
				ONDA P ⁽⁴⁾	PR ⁽⁵⁾	QRS ⁽⁶⁾	QT ⁽⁷⁾	ST ⁽⁸⁾	ONDA T ⁽⁹⁾	
1	120	AS ⁽³⁾	+30° a +60°	0,03 / 0,30	0,09	0,04 / 2,00	0,18	/(-)0,3	(+) <25%R	⁽¹⁰⁾ NDN
2	100	AS	+60° a +90°	0,03 / 0,40	0,09	0,04 / 2,10	0,17	(-) 0,30	(-) <25%R	NDN
3	140	AS	+60° a +90°	0,02 / 0,30	0,08	0,04 / 2,00	0,16	(-) 0,30	(-) >25%R	NDN
4	120	AS	+90° a +120°	0,04 / 0,25	0,08	0,02 / 0,45	0,17	(-) 0,25	(-) >25%R	NDN
5	140	RSN ⁽²⁾	0 a +30°	0,04 / 0,30	0,10	0,05 / 1,50	0,20	(-) 0,30	(-) >25%R	NDN
6	100	AS	+60° a +90°	0,03 / 0,15	0,08	0,04 / 1,40	0,20	(-) 0,30	(-) >25%R	NDN
7	140	AS	+60° a +90°	0,03 / 0,20	0,08	0,02 / 1,70	0,15	(-) 0,25	(+) < 25%R	NDN
8	80	AS	+60° a +90°	0,04 / 0,25	0,08	0,05 / 2,60	0,19	(-) 0,30	(-) < 25%R	NDN
9	100	AS	+30° a +60°	0,03 / 0,10	0,08	0,04 / 3,60	0,16	(-) 0,25	(-) > 25%R	NDN
10	160	RSN	+60° a +90°	0,03 / 0,40	0,08	0,05 / 1,90	0,16	(-) 0,30	(-) > 25%R	NDN
11	100	AS	+60° a 90°	0,04 / 0,10	0,08	0,04 / 1,90	0,19	(-) 0,35	(-) > 25%R	NDN
12	100	AS	+60° a +90°	0,04 / 0,30	0,08	0,05 / 2,60	0,21	(-) 0,35	(-) > 25%R	NDN
13	160	AS	+60° a +90°	0,04 / 0,30	0,08	0,04 / 2,30	0,18	(-) 0,30	(-) > 25%R	NDN
14	140	AS	0 a +30°	0,03 / 0,20	0,11	0,03 / 0,50	0,16	(+)0,20	(-) > 25%R	NDN
15	140	AS	+60° a +90°	0,04 / 0,30	0,13	0,04 / 1,10	0,17	(+)0,20	(+) >25%R	NDN
16	140	RSN	+60° a +90°	0,05 / 0,35	0,12	0,05 / 1,10	0,16	(+)0,20	(+) >25%R	NDN
17	100	AS	+90° a +120°	0,05 / 0,25	0,11	0,04 / 1,70	0,18	(+)0,20	(+) >25%R	NDN
18	100	AS	+60° a +90°	0,04 / 0,10	0,13	0,05 / 1,50	0,21	(+)0,20	(-) <25%R	NDN

(1) Frequência cardíaca, em batimentos por minuto (bpm)

(2) Ritmo sinusal normal

(3) Arritmia sinusal com marcapasso migratório

(4) Onda P: duração mensurada em segundos (s) e amplitude em milivolts (mV), respectivamente

(5) intervalo PR: duração mensurada em segundos (s)

(6) Complexo QRS: duração mensurada em segundos (s) e amplitude em milivolts (mV), respectivamente

(7) Intervalo QT, duração mensurada em segundos (s)

(8) Segmento ST, avaliado em relação à linha base, em milivolts (mV); (-) infradesnível e (+) supradesnível.

(9) Onda T, verificada sua polaridade, se positiva (+), negativa (-) ou (b) bifásica e mensurada a amplitude em milivolt (mV) se maior (>) ou menor (<) que 25% de R

(10) NDN- nada digno de nota

Quadro 1- Descrição de alguns parâmetros ecocardiográficos de cães clínica e eletrocardiograficamente normais (grupo 1). São Paulo-2005

Parâmetro Animal	Ao (cm)	AE (cm)	Ao/AE	DdVE (cm)	DsVE (cm)	PPVEd (cm)	SIVd (cm)	PPVEs (cm)	SIVs (cm)	FEnc (%)	FEj (%)	E-SPT (cm)	DdVD (cm)
1	1,90	2,12	0,90	3,81	2,53	0,73	0,73	1,00	1,10	33,5	63,0	0,53	1,50
2	1,84	1,95	0,94	3,11	1,86	0,52	0,53	0,76	1,07	40,1	72,2	0,31	1,10
3	2,35	2,70	0,87	4,62	3,06	0,78	0,83	1,09	1,29	33,7	62,5	0,74	2,00
4	1,57	1,57	1,00	2,75	1,73	0,55	0,56	0,84	0,85	36,7	68,1	0,30	0,93
5	2,28	2,45	0,93	3,99	2,67	0,74	0,74	1,13	1,21	33,0	62,2	0,53	1,76
6	1,15	1,32	0,87	2,34	1,35	0,57	0,53	1,00	0,85	41,8	75,3	0,13	1,05
7	1,24	1,30	0,95	2,09	1,14	0,47	0,49	0,89	0,91	45,5	79,5	0,11	0,90
8	1,87	2,09	0,89	3,21	2,01	0,52	0,56	0,98	1,02	37,4	68,8	0,23	1,12
9	1,45	1,55	0,93	2,74	1,69	0,64	0,64	0,96	1,16	38,3	70,5	0,13	0,70
10	2,24	2,42	0,92	4,75	3,30	0,92	0,96	1,33	1,44	30,5	57,9	0,46	1,60
11	2,35	2,56	0,92	4,28	2,86	0,70	0,70	1,10	1,18	33,2	61,7	0,42	1,34
12	1,84	2,04	0,90	3,15	1,90	0,69	0,67	1,13	1,13	39,6	71,7	0,22	1,32
13	2,30	2,30	1,0	4,10	2,31	0,74	0,72	1,54	1,43	43,6	75,3	0,44	1,96
14	1,90	2,17	0,88	3,58	2,39	0,69	0,69	1,05	1,13	33,2	62,8	0,29	1,79
15	2,45	2,53	0,97	4,39	3,02	0,66	0,66	1,12	1,08	31,2	58,9	0,59	1,76
16	2,01	2,09	0,96	3,90	2,34	0,69	0,70	1,22	1,22	40,0	71,3	0,29	1,50
17	1,73	1,73	1,00	3,00	1,71	0,52	0,55	1,18	0,91	43,0	75,5	0,22	1,36
18	1,73	2,01	0,86	3,12	1,87	0,67	0,69	1,10	1,04	40,0	72,2	0,11	1,10
19	2,17	2,42	0,90	3,47	1,90	0,83	0,83	1,27	1,32	45,2	0,78	0,20	1,1
20	1,95	1,95	1,00	3,27	2,10	0,64	0,64	1,07	1,00	35,7	66,6	0,35	1,02

Ao: Aorta

AE: Átrio esquerdo

Ao/AE: Relação aorta / átrio esquerdo

DdVE: Diâmetro diastólico de ventrículo esquerdo

DsVE: Diâmetro sistólico de ventrículo esquerdo

PPVEd: parede posterior de ventrículo esquerdo em diástole

SIVd: septo interventricular em diástole

PPVEs: parede posterior de ventrículo esquerdo em sístole

SIVs: septo interventricular em sístole

FEnc.: fração de encurtamento

FEj.: fração de ejeção

E-SPT: distância E-septo

5.1 Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo Centro de Estatística Aplicada (CEA) do Instituto de Matemática e Estatística da Universidade de São Paulo (IME-USP), por um acadêmico do último período do curso de Bacharelado em Estatística, sob a orientação de um docente do Instituto. Foram utilizadas as seguintes técnicas estatísticas: análise descritiva uni e multidimensional, testes Bayesianos e análise de dados categorizados (BERQUÓ et al., 1981; BUSSAB e MORETTIN, 2002). Foram selecionados, para compor a tese, apenas gráficos e tabelas em que as variáveis possuíam associação passível de ser analisada na discussão dos resultados.

As variáveis resposta em estudo foram:

- **CK-MB:** concentração sérica da enzima creatinafosfoquinase-isoenzima MB (CK-MB), medida em ng/mL de sangue;
- **cTnI:** concentração sérica da enzima troponina I (cTnI), medida em ng/mL de sangue.

As variáveis explicativas do estudo foram:

- **CK-T:** atividade sérica da enzima creatinafosfoquinase total, medida em U/L (unidades por litro);
- **potássio:** concentração de potássio sérico, medida em mmol/L;
- **sexo:** macho ou fêmea;
- **idade:** em anos;
- **massa:** massa corporal em quilograma (Kg);
- **definição racial:** CRD (com raça definida) e SRD (sem raça definida);

- **grupo:** normal e com desnível.

5.1.1 Análise descritiva

Inicialmente, analisaram-se os grupos em relação às variáveis explicativas.

O grupo normal apresentou, predominantemente, cães com idade inferior a sete anos, enquanto no grupo com desnível ocorreu a predominância de animais com mais de sete anos (tabela 7 e gráfico 1); fato este que inviabilizou a avaliação das associações de tal variável com cada variável resposta.

Tabela 7-Tabela de frequência para a variável idade pela variável grupo-São Paulo-2005

Grupo	Idade		Total
	1 a 6 anos	7 anos e mais	
Normal	19	1	20
Com Desnível	3	15	18

Gráfico 1-Histogramas da variável idade pela variável grupo-São Paulo-2005

Para a variável raça nota-se que, no grupo dos normais, a frequência de cães com raça definida foi menor que a frequência dos sem raça definida, enquanto que no grupo com desnível ocorreu o inverso. Nota-se que, em ambos os grupos, a diferença entre as frequências dos níveis da variável raça foi muito acentuada (tabela 8). Para as variáveis sexo e CK-T, nota-se que não houve diferenças acentuadas entre as distribuições dessas variáveis nos grupos normal e com desnível (tabela 8 e gráfico 2).

Tabela 8-Tabela de frequência das variáveis sexo e raça pela variável grupo-São Paulo-2005

		Grupo		Total
		Normal	Com Desnível	
Sexo	Fêmea	8	7	15
	Macho	12	11	23
	Total	20	18	
Raça	CRD	6	16	22
	SRD	14	2	16
	Total	20	18	

Gráfico 2-Histogramas da variável CK-T pela variável grupo-São Paulo-2005

Para a variável massa nota-se que, no grupo com desnível, houve maior frequência de valores baixos em relação ao grupo normal; ainda, no grupo normal houve uma distribuição mais homogênea dos valores da variável massa que no grupo com desnível (gráfico 3).

Gráfico 3-Histogramas da variável peso corpóreo pela variável grupo-São Paulo-2005

A seguir, é apresentada uma análise descritiva da variável resposta CK-MB. Observou-se (gráfico 4) que três cães apresentaram valores de resposta discrepantes dos demais, sendo um deles do grupo com desnível e os demais do grupo normal. Nota-se que a distribuição dessa variável foi assimétrica, sendo que o mínimo, o primeiro quartil e a mediana foram praticamente coincidentes (tabela 9), devido à alta frequência de valores iguais a zero (valores imprecisos): 18 valores nulos em 38 observações.

Tabela 9-Medidas resumo da variável CK-MB e cTnI, nos dois grupos-São Paulo-2005

Variável	Número de observações	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Mínimo	1o Quartil	Mediana	3o Quartil	Máximo
CK-MB	38	0,49	0,986	0,160	0,00	0,00	0,03	0,68	4,7
cTnI	38	0,18	0,112	0,018	0,00	0,11	0,17	0,24	0,52

Gráfico 4-Boxplot da variável CK-MB nos dois grupos-São Paulo-2005

*outliers: Bill pertence ao grupo com desnível, demais pertencem ao grupo normal

Na tabela 10 e nos gráficos 5 e 6 , nota-se que não houve diferenças acentuadas entre as distribuições da variável CK-MB segundo os níveis da variável grupo; portanto não houve evidências de que as proporções de respostas nulas (valores imprecisos) nos dois grupos sejam diferentes (tabela 10).

Tabela 10-Tabela de frequência de valores nulos na variável CK-MB por grupo-São Paulo-2005

Grupo	Frequência	Total
Normal	9	20
Com Desnível	9	18

Gráfico 5-Histogramas da variável CK-MB pela variável grupo-São Paulo-2005

Gráfico 6-Boxplot da variável CK-MB pela variável grupo-São Paulo-2005

Observou-se uma associação negativa entre CK-MB e peso corpóreo nos dois grupos, ou seja, quanto maior o peso corpóreo menor a concentração sérica de CK-MB (gráfico 7).

Gráfico 7-Diagrama de dispersão da variável CK-MB pela variável peso corpóreo, por grupo-São Paulo-2005

Observou-se uma associação positiva entre CK-MB e CK-T nos dois grupos, pois o aumento na concentração sérica de CK-MB e CK-T ocorreu simultaneamente.

Gráfico 8-Diagrama de dispersão da variável CK-MB pela variável CK-T, por grupo-São Paulo-2005

A seguir, é apresentada uma análise descritiva da variável resposta cTnI. Destaca-se (gráfico 9) que um cão apresentou valor discrepante dos demais, sendo este do grupo com desnível. Nota-se que a distribuição dessa variável é simétrica.

Gráfico 9-Boxplot da variável cTnI, nos dois grupos -São Paulo-2005

Dos gráficos 10, 11 e tabela 11, nota-se que não houve diferenças acentuadas entre as distribuições da variável cTnI segundo os níveis da variável grupo. Nota-se, porém, que as proporções de respostas nulas (valores imprecisos) nos dois grupos parecem ser diferentes (tabela 12).

Gráfico 10-Histogramas da variável cTnI pela variável grupo-São Paulo-2005

Gráfico 11-Boxplot da variável cTnI pela variável grupo-São Paulo-2005

Tabela 11-Medidas resumo da variável CK-MB e cTnI pela variável grupo-São Paulo-2005

Variável	Grupo	Número de observações	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Mínimo	1o Quartil	Mediana	3o Quartil	Máximo
CK-MB	Com Desnível	18	0,44	1,106	0,261	0,00	0,00	0,01	0,48	4,70
	Normal	20	0,54	0,890	0,199	0,00	0,00	0,10	0,83	3,60
cTnI	Com Desnível	18	0,20	0,111	0,026	0,03	0,14	0,19	0,25	0,52
	Normal	20	0,16	0,110	0,025	0,00	0,07	0,16	0,23	0,43

Tabela 12-Tabela de frequência de valores nulos na variável cTnI por grupo-São Paulo-2005

Grupo	Frequência	Total
Normal	3	20
Com Desnível	0	18

5.1.2 Análise inferencial

A análise inferencial para cada variável resposta, em estudo, foi realizada utilizando-se técnicas de duas escolas de Inferência Estatística, a saber, Estatística Clássica e Estatística Bayesiana. A consideração dessas duas abordagens justifica-se pela ocorrência de muitos dados imprecisos, inviabilizando o emprego de técnicas usuais baseadas em grandes amostras.

Foram analisadas as possíveis relações entre cada uma das variáveis resposta e a variável explicativa grupo. As demais variáveis explicativas foram abordadas apenas descritivamente.

Destaque-se que os grupos normal e com desnível apresentam composições muito diferentes em relação às variáveis idade e raça. Isto é devido ao fato de que, tanto para a variável raça quanto para a variável idade, há combinações dos níveis dessa variável e do grupo sem observações (no caso há confusão entre grupo e a referida variável). Desse modo, não há possibilidade de se avaliar a existência de possíveis associações entre tais variáveis e cada variável resposta. Acredita-se que não exista associação entre a variável raça e cada variável resposta, mas o mesmo não ocorre em relação à variável idade.

Devido à alta frequência de dados imprecisos (próximos de zero), considera-se a distribuição de cada variável resposta composta de duas partes, uma, denominada parte discreta, formada pelos valores imprecisos (próximos de zero) e outra, denominada parte contínua, formada pelos valores positivos.

Para cada variável resposta, a análise inferencial da parte discreta foi baseada em um teste de comparação de proporções, sob a abordagem clássica, e em um teste FBST

(Full Bayesian Significance Test) de homogeneidade, sob a perspectiva bayesiana, para avaliar se existe diferença entre as proporções de dados imprecisos dos dois grupos.

Para cada variável resposta, a análise inferencial da parte contínua foi baseada no Teste Exato de Fisher, sob a abordagem clássica para avaliar se existe diferença entre as partes contínuas das distribuições de cada variável resposta dos dois grupos.

Analizando a parte discreta, destaca-se que não houve diferença significativa entre as proporções de dados imprecisos na variável resposta CK-MB dos grupos com desnível e normal (quadros 2 e 3). Neste caso, a estimativa por intervalo para a proporção de dados imprecisos na variável resposta CK-MB é apresentada na tabela 13.

5.1.2.1 Variável resposta CK-MB

Quadro 2-Resultado do teste de comparação de proporções de dados imprecisos na variável CK-MB entre os grupos-São Paulo-2005

Distribuições a priori: $\theta_1/x_1 \sim \text{Beta}(1,1)$ $\theta_2/x_2 \sim \text{Beta}(1,1)$			
Onde θ_i é a proporção de dados imprecisos no grupo i x_i é a amostra do grupo i			
Grupo	Frequência de dados		Total
	imprecisos	precisos	
Normal	9	11	20
Com Desnível	9	9	18
Total	18	20	38
Evidência:	0.95		

Quadro 3-Resultado do teste FBST para a comparação de proporções de dados imprecisos na variável CK-MB entre os grupos-São Paulo-2005

Distribuições a priori: $\theta_1/x_1 \sim \text{Beta}(1,1)$ $\theta_2/x_2 \sim \text{Beta}(1,1)$			
Onde θ_i é a proporção de dados imprecisos no grupo i x_i é a amostra do grupo i			
Grupo	Frequência de dados		Total
	imprecisos	precisos	
Normal	9	11	20
Com Desnível	9	9	18
Total	18	20	38
Evidência:	0.95		

Tabela 13-Intervalo de confiança de 95% para a proporção imprecisos na variável resposta CK-MB-São Paulo-2005

Frequência de dados imprecisos	Tamanho da amostra	Proporção	Intervalo de confiança de 95%	
18	38	0,474	0,313	0,635

Para a análise da parte contínua, procedeu-se, inicialmente, à categorização dos dados, segundo grupo (normal e com desnível), e posição relativa à mediana geral da parte contínua (menor ou igual à mediana ou maior que a mediana). Utilizou-se, então, o Teste Exato de Fisher. Não foi detectada associação significativa, ao nível de 5% de significância, entre as distribuições entre grupo e CK-MB considerando-se a categorização da variável resposta CK-MB (quadro 4).

Quadro 4-Resultado do Teste Exato de Fisher para a primeira categorização da parte contínua da variável CK-MB, segundo os grupos-São Paulo-2005

Mediana geral : 0,64			
Grupo	Frequência de dados		Total
	= mediana geral	> mediana geral	
Normal	4	7	11
Com Desnível	6	3	9
Total	10	10	20
Nível descritivo: $\alpha^* = 0,370$			

5.1.2.2 Variável resposta cTnI

A análise da variável resposta cTnI foi desenvolvida de maneira similar à análise da variável resposta CK-MB.

Analisando a parte discreta, destaca-se que não houve diferença significativa entre as proporções de dados imprecisos na variável resposta cTnI dos grupos com desnível e normal (quadros 5 e 6). Neste caso, a estimativa por intervalo para a proporção de dados imprecisos na variável cTnI é apresentada na tabela 14.

Quadro 5-Resultado do teste de comparação de proporções de dados imprecisos na variável cTnI entre os grupos com desnível e normal-São Paulo-2005

Grupo	Frequência de dados imprecisos	Tamanho da amostra	Proporção
Normal (1)	3	20	0,15
Com Desnível (2)	0	18	0,00
Estimação para $p(1) - p(2)$: 0,15			
Intervalo de confiança de 95% para $p(1) - p(2)$: [-0,01; 0,31]			
Estatística do teste: $Z = 1,88$			
Nível descritivo: $\alpha^* = 0,06$			

Quadro 6-Resultado do teste FBST para comparação de proporções dados imprecisos na variável cTnI para os Grupos-Paulo- 2005

Distribuições a priori: $\theta_1/x_1 \sim \text{Beta}(1,1)$ $\theta_2/x_2 \sim \text{Beta}(1,1)$			
Onde θ_i é a proporção de dados imprecisos no grupo i x_i é a amostra do grupo i			
Grupo	Frequência de dados		Total
	imprecisos	precisos	
Normal	3.01	17.01	20.02
Com Desnível	0.01	18.01	18.02
Total	3.02	35.02	38.04
Evidência:	0.175		

Tabela 14-Intervalo de confiança de 95% para a proporção de dados imprecisos na variável resposta cTnI-São Paulo-2005

Frequência de dados imprecisos	Tamanho da amostra	Proporção	Intervalo de confiança de 95%	
3	38	0,079	0,000	0,166

Para a análise da parte contínua, procedeu-se, inicialmente, à categorização dos dados, segundo grupo (normal e com desnível), e posição relativa à mediana geral da parte contínua (menor ou igual à mediana ou maior que a mediana). Utilizou-se, então, o Teste Exato de Fisher. Não foi detectada associação significativa, ao nível de 5% de significância, entre grupo e cTnI, considerando-se a categorização da variável resposta cTnI (quadro 7).

Quadro 7-Resultado do Teste Exato de Fisher para a primeira categorização da parte contínua da variável cTnI, segundo os grupos-São Paulo-2005

Mediana geral : 0,18			
Grupo	Frequência de dados		Total
	$\leq$ mediana geral	$>$ mediana geral	
Normal	9	8	17
Com Desnível	9	9	18
Total	18	17	35
Nível descritivo: $\alpha^* = 1,000$			

A parte contínua foi, ainda, analisada considerando-se uma segunda categorização da variável resposta cTnI: nesse último caso, cada observação foi classificada segundo sua posição relativa aos quartis gerais da parte contínua da variável resposta cTnI. Utilizou-se, então, o Teste Exato de Fisher. Não foi detectada associação significativa, ao nível de 5% de significância, entre grupo e cTnI considerando-se a segunda categorização da variável resposta cTnI (quadro 8).

Quadro 8-Resultado do Teste Exato de Fisher para a segunda categorização da parte contínua da variável cTnI, segundo os grupos-São Paulo-2005

Q ₁ (1º Quartil geral) – 0,14					
Méd (Mediana geral) – 0,18					
Q ₃ (3º Quartil geral) – 0,24					
Grupo	Frequência de dados				Total
	= Q1	]Q1;Med]	]Med;Q3]	>Q3	
Normal	5	4	4	4	17
Com Desnível	4	5	5	4	18
Total	9	9	9	9	38
Nível descritivo: $\alpha^* = 1,00$					

6. DISCUSSÃO

A literatura médico-veterinária, ao contrário da literatura médica, ainda é escassa em trabalhos envolvendo os marcadores cardíacos, porém nos últimos dois anos houve a publicação de alguns artigos mensurando as troponinas T e I em cães normais e naqueles com miocardiopatias (SLEEPER et al., 2001, HERNDON et al., 2002, SCHOBBER et al., 2002, TARDUCCI et al., 2004). Mesmo em estudos mais recentes, não há relatos da mensuração da CK-MB, utilizando-se ensaio imunométrico quimioluminescente (O'BRIEN, 1997). Nos centros cardiológicos médicos a mudança na metodologia de dosagem da CK-MB foi recente e objetivou a melhoria na sensibilidade e especificidade diagnóstica (RAMOS e MAGALHÃES, 2002).

Em relação à CK-MB, o grupo 1 apresentou média de 0,54 ng/mL e desvio-padrão de 0,89 ng/mL, enquanto que no grupo 2 a média foi de 0,44 ng/mL e o desvio-padrão de 1,106 ng/mL. A cTnI teve média de 0,16 ng/mL e desvio-padrão de 0,110 ng/mL no grupo 1, e média de 0,20 ng/mL e desvio-padrão de 0,111 ng/mL no grupo 2. Os valores de cTnI encontrados, no grupo 1, não se contrapõem com os encontrados por SLEEPER et al. (2001) e TARDUCCI et al. (2004).

SLEEPER et al. (2001) e TARDUCCI et al. (2004) mensuraram, respectivamente, cTnI (n=20) e cTnT (n=21), em animais normais de raças, portes e idades variadas. Os animais do grupo 1 apresentaram idade, na sua maioria, inferior a sete anos; o contrário ocorreu no grupo 2 (gráfico 1). O critério de escolha dos elementos de cada grupo baseou-se no exame eletrocardiográfico. Cães mais velhos são passíveis de apresentar deflexões, mais frequentes, do segmento ST e hipóxia/isquemia miocárdica, devido à

maior predisposição à injúria do endotélio das artérias coronárias e em decorrência das válvulo e miocardiopatias.

Os animais do grupo 2 apresentaram uma distribuição do peso corpóreo mais homogênea, o que não ocorreu no grupo 1, este que pode ser devido à predominância de animais da raça Poodle (sete animais) e Cocker Spaniel (três animais), que juntos perfizeram 55% da amostra (tabela 2 e gráfico 3).

Em relação à CK-MB, nos dois grupos, houve uma alta frequência de valores nulos, fato não observado na cTnI (tabela 10 e gráfico 5). Isto pode ser explicado pela maior permanência da cTnI na circulação (podendo ultrapassar sete dias) e sua melhor eficiência diagnóstica em lesões miocárdicas mínimas (RAMOS e MAGALHÃES, 2002).

Houve indícios da associação entre CK-MB e peso corpóreo nos grupos 1 e 2, pois quanto menor o peso corpóreo maior a concentração sérica da CK-MB (gráfico 7). Cães de menor porte apresentam frequência cardíaca mais elevada e, geralmente, são mais susceptíveis ao estresse e, conseqüentemente, à hipóxia miocárdica fisiológica durante a sístole (BRAUNWALD e SOBEL, 1991).

Nos animais do grupo 2, detectou-se uma relação entre CK-T e CK-MB, isto é, o aumento da atividade sérica de CK-T é acompanhado, também, pelo aumento da atividade de CK-MB (gráfico 9). O fato observado é justificado sabendo-se que CK-MB é um dos constituintes da CK-T (LANOT et al., 1989; AKTAS et al., 1993).

Os testes estatísticos não revelaram diferença significativa nos níveis de CK-MB e cTnI nos grupos 1 e 2, sendo que se esperava um nível maior destas substâncias nos animais do grupo 2. Ainda não há estudos, em cães, associando os níveis de CK-MB

e/ou cTnI com as deflexões no segmento ST. Sabe-se que um dos estímulos para a formação de vasos colaterais, a partir do tronco das coronárias, é a hipóxia/isquemia crônicas (BRAUNWALD e SOBEL,1991). A partir desta informação, poder-se-ia pensar que nos animais do grupo 2, com oxigenação miocárdica deficitária, houvesse uma estimulação para a formação de colaterais, suficientes para manter a integridade ou tornar mínimo o dano ao miócito, mas não evitando o distúrbio de repolarização. CK-MB não é um bom marcador para lesões diminutas, sendo que seu nível sérico ascende lentamente, podendo explicar o grande número de valores nulos (RAMOS e MAGALHÃES, 2002). Já cTnI não tem estas características, assim como cTnT, mas prestam-se mais ao diagnóstico de lesões agudas, como as obtidas nas lesões oclusivas (RICCHIUTI et al., 1998; RAMOS e MAGALHÃES, 2002; TARDUCCI et al., 2004).

SCHOBBER et al. (2002) mensuraram cTnI (mensuração única) em cães com síndrome dilatação-vôlvulo-torção gástrica e obtiveram, naqueles que foram a óbito, mesmo após tratamento clínico-cirúrgico, nível sérico médio de 24,90 ng/mL; nos animais que sobreviveram, após o tratamento, o nível sérico de cTnI foi de 2,05 ng/mL. LOBETTI et al. (2002) mensuraram cTnI em cães apresentando babesiose e obtiveram nível sérico médio de 22,17 ng/mL, nos que sucumbiram, mesmo após protocolo terapêutico instituído; nos animais do grupo controle, o nível sérico médio de cTnI foi menor que 0,3 ng/mL. Estes estudos mostraram a importância de se obter os valores referenciais dos marcadores cardíacos, pois estes poderão auxiliar na determinação do prognóstico das cardiopatias ou das afecções sistêmicas potencialmente lesivas ao miocárdio.

7. CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados obtidos, considerando as condições em que o experimento foi realizado, pode-se concluir que:

- o “kit” de ensaio imunométrico por quimioluminescência humano, para a mensuração de CK-MB e cTnI, pode ser utilizado na espécie canina, com a finalidade de monitorar possíveis danos ao miocárdio ou em trabalhos experimentais;
- os valores médios de CK-MB e troponinas obtidos em animais normais não podem ser considerados referenciais, devido ao tamanho da amostra em estudo;
- não havendo diferença entre os níveis dos marcadores cardíacos entre os animais dos grupos 1 e 2, sugere-se que os animais com desnível no segmento ST não devem apresentar lesão miocárdica, ou que esta é mínima;
- como não houve diferença significativa nos níveis de CK-MB e cTnI nos animais dos dois grupos, não é possível diferenciar a hipóxia/isquemia miocárdica da hiper/hipopotassemia.

8. Referências bibliográficas

AHMED, S. A.; WILLIAMSON, J.R.; ROBERTS, R.; CLARK, R.E.; SOBEL, B.E. The association of increased plasma MB CPK activity and irreversible ischemia myocardial injury in the dog. **Circulation**, v.54, n.2, p.187-193, Aug. 1976.

AKTAS, D.M.; AUGUSTE, D.; LEFEBURE, H.P.; TOUTAIN, P.L.; BRAUN, J.P. Creatine kinase in the dog: a review. **Veterinary Research Communication**, v.17, n.5, p.353-369, 1993.

BABSON, A.L. The IMMULITE automated immunoassay system. **Journal Clinical Immunoassay**, n.14, p.83-88, 1991.

BERQUÓ, E.S.; SOUZA, J.M.P.; GOTLIEB, S.L.D. Comparação entre a média de duas populações. In: _____. **Bioestatística**. São Paulo: EPU, 1981. p.233-246.

BIESIADECKI, B.J.; ELDER, B.D.; YU, Z.B.; JIN, J.P. Cardiac Troponin T Variants Produced by Aberrant Splicing of Multiple Exons in Animals High Instances of Dilated Cardiomyopathy. **Journal Biology Chemistry**, v.277, n.52, p.50275-50285, 2002

BONAGURA, J.D. M-mode echocardiography basic principles. **Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practice**, v.12, n.2, p.299-319, 1983.

BOON, J.A. The echocardiographic examination. In: BOON, J.A. **Manual of veterinary echocardiography**. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998. p.151-260

BOTTOMLEY, P.A.; WEISS, R.G. Noninvasive localized MR quantification of creatine kinase metabolites in normal and infarcted canine myocardium. **Radiology**, v.219, n.2, p.411-418, May. 2001.

BRAUNWALD, E.; SOBEL, B.E. Fluxo sanguíneo coronário e isquemia miocárdica. In: BRAUNWALD, E. **Tratado de Medicina Cardiovascular**. São Paulo: Roca, 1991. p.1248- 1280.

BUSSAB, W.O.; MORETTIN, P. A. **Estatística Básica**. 4. ed. São Paulo: Saraiva, 2002. 321p.

BIOSYSTEMS. **Creatina Kinase**. Barcelona: BioSystems, 2000. 2p.

CAMAROZANO, A.C.A.; HENRIQUES, L.M.G. Uma macromolécula capaz de alterar o resultado do CK-MB e induzir ao erro diagnóstico de infarto agudo do miocárdio. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.66, n.3, p.1-9, 1996.

CAMPBELL, A.K. **Chemiluminescence: principles and applications in biology and medicine**. England: VCH&Ellis Horwood, 1988. 607p.

DPC. **CK-MB**. São Paulo: DPC, 2002. 25p.

DPC. **Troponin I**. São Paulo: DPC, 2002. 26p.

FEITOSA, F.L.F.; CIARLINI, L.D.R.P.; CIARLINI, P.C. Quimiluminescência: princípio e aplicações. **Revista de Educação Continuada**, v.5, n.2, p.181-185, 2002.

FENG, Y.J.; CHEN, C.; FALLON, J.T.; LAI, T.; CHEN, L.; KNIBBS, D.R.; WATERS, D.D.; WU, A.H.B. Comparison of Cardiac Troponin I, Creatine Kinase-MB, and Myoglobin Injury in Swine Model. **Clinical Chemistry**, v.110, n.2, p.70-77, 1998.

FOX, P.R. Moléstias do Miocárdio. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. São Paulo: Manole, 1992. p.1153-1189.

HERNDON, W.E.; KITTLESON, M.D.; SANDERSON, K.; DROBATZ, K.J.; CLIFFORD, C.A.; GELZER, A.; SUMMERFIELD, N.J.; LINDE, A.; SLEEPER, M.M. Cardiac Troponin I in Feline Hypertrophic Cardiomyopathy. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v.16, n.3, p.558-564, 2002.

KITAGAWA, H.; KANO, M.; SASAKI, Y.; HIRANO, Y. Serum creatine kinase activities in dog with dirofilarioses. **Journal Veterinary Medicine Sciency**, v.4, n.53, p.569-575, Mar.1991.

LANDT, Y.; VAIDYA, H.C.; PORTER, S.E.; DIETZLER, D.N.; LADENSON, J.K. immunoaffinity purification of creatine kinase-MB from human, dog e rabbit heart use of a monoclonal antibody specific for CK-MB. **Clinical Chemistry**, v.35, n.6, p.985-989, Mar. 1989.

LOBETTI, R.; DVIR, E.; PEARSON, J. Cardiac Troponins in Canine Babesioses. **Journal Veterinary Internal Medicine**, n.16, 63-68, 2002.

LOEGERING, D.J.; CRITZ, J.B. Effect of hypoxia and muscular activity on plasma enzyme levels in dogs. **American Journal of Physiology**, v.220, n.1, p.100-103, Jan. 1971.

MEYER, D.J; HARVEY, J.W. **Veterinary Laboratory Medicine**. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1998. 373p.

MOFFA, P.J.; SANCHES, P.C.R. **Eletrocardiograma normal e patológico**. São Paulo: Roca, 2001. 911p.

MOÏSE, N.S.; FOX, P.R. Echocardiography and doppler imaging. In: FOX, P.R.; SISSON, D.; MOÏSE, N.S. **Textbook of canine and feline cardiology**. 2 ed. Philadelphia: Saunders, 1999, p.130-171.

O'BRIEN, P.J.; LANDT, Y.; LADENSON, J.H. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. **Clinical Chemistry**, v.43, n.12, p.2333-2338, 1997.

O'BRIEN, P.J. Deficiencies of myocardial troponin-T and creatine kinase MB isoenzyme in dogs with idiopathic dilated cardiomyopathy. **American Journal Veterinary Research**, v.58, n.1, p.11-16, Jan. 1997.

RAMOS, R.F.; MAGALHÃES, H.M. Infarto Agudo do miocárdio: novos métodos de diagnóstico e prognóstico. In: TIMERMAN, A.; CÉSAR, L.A.M.(Ed.). **Manual de Cardiologia (SOCESP)**. São Paulo: Atheneu, 2000. p.147-151.

RICCHIUTI, V.; SHARKEY, S.W.; MURAKAMI, M.M.; VOSS, E.M.; APPLE, F.S. Cardiac Troponin I and T Alteration in Dog Hearts with Myocardial Infarction. **American Society of Clinical Pathologists**, v.110, n.2, p.241-247, 1998.

RISHNIW, M.; BARR, S.C; SIMPSON, K.W.; WINAND, N.J.; WOOTTON, J.A.M. Cloning and sequencing of the canine and feline cardiac troponin I genes. **American Journal of Veterinary Research**, v.65, n.1, p.53-58, 2004.

ROBINSON, W.F. The Cardiovascular System. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of Domestic Animals**. Florida: Academic Press, 1985. p.1-81.

SANTOS, M.M. **Concentração plasmática de norepinefrina em cães hípidos e naqueles com cardiomiopatia dilatada e fibrose valvar crônica de mitral**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2003.83p.

SCHOBBER, K.; KIRBACH, B.; CORNAND, C.; OECHTERING, G. Diagnostische und differenzialdiagnostische Wertigkeit zirkulierender kardialer Troponine bei Hund und Katze. **Tierärztl Prax**, v.30, p.327-331, 2002.

SCHOBBER, K.; KIRBACH, B.; CORNAND, C.; OECHTERING, G.; AUPPERLE, H. Serum cardiac troponin I and cardiac troponin T concentrations in dogs with gastric dilatation-volvulus. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.221, n.3, p.381-388, 2002.

SHARKEY, S.W., ELSPERGER, K.J.; MURAKAMI, M; APPLE, F. Canine myocardial creatine kinase isoenzyme response to coronary artery occlusion. **American Journal Physiology (Heart Circulation Physiology)**, v.256, n.25, p.508-514, 1989.

SLEEPER, M.M.; CLIFFORD, C.A.; LASTER, L.L. Cardiac Troponin I in the Normal Dog and Cat. **Journal Veterinary Internal Medicine**, n.15, p.501-503, 2001.

TARDUCCI, A.; ABATE, O.; BORGARELLI, M.; BORRELLI, A.; ZANATTA, R.; CAGNASSO, A. Serum Values os Cardiac Troponin-T in Normal and Cardiomyopathic Dogs. **Veterinary Researche Communications**, n.28, p.385-388, 2004.

THOMAS, W.P. Myocardial disease of the dog. In: BONAGURA, J.D. (ed.). **Cardiology**. New York: Churchill Livingstone, 1987. p.117-156.

TILLEY, P.L. ST segment abnormalities. In: _____ **Essentials of Canine and Feline Eletocardiography: Interpretation and Treatment**. USA: Lea&Febiger, 1992. p .84-87.

TILLEY, L.P.; JUNIOR, F.W.K.S. **Consulta Veterinária em 5 minutos**. São Paulo: Manole, 2003. 1423 p.

VOSS, E.M.; SHARKEY, S.W.; GERNERT, E.; MURAKAMI, M.M.; JOHNSTON, R.B.; HSIEH, C.C.; APPLE, F.S. Human and canine cardiac troponin T and creatine kinase-MB distribution in normal and diseased myocardium. **Archive Pathology Laboratory Medicine**, v.119, n.9, p.798-806, Sep. 1995.

WEEKS, I. Chemiluminescence Immunoassay. In: PRICE, C.P. **Principles and practice of immunoassay**. Londres: Mac-Milan, 1997. p.427-442.

WYATT, K.M.; LABUS, R.; WYATT, G.L. Mesurement of creatine kinase MB in canine cardiac patients. **Australian Veterinary Journal**, v.76, n.12, p.826, Dec. 1998.