ANDRÉ MARTINS GIMENES

**Fração solúvel de ST2 como biomarcador na insuficiência cardíaca secundária
à degeneração valvar crônica de mitral em cães**

São Paulo
2016

ANDRÉ MARTINS GIMENES

**Fração solúvel de ST2 como biomarcador na insuficiência cardíaca secundária
à degeneração valvar crônica de mitral em cães**

Tese 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 Doutor em Ciências

Departamento:
Clínica Médica

Área de Concentração:
Clínica Veterinária

Orientadora:
Profa. Dra. Denise Saretta Schwartz

De acordo: _____
Orientador(a)

São Paulo
2016

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.3309
FMVZ

Gimenes, André Martins

Fração solúvel de ST2 como biomarcador na insuficiência cardíaca secundária à
degeneração valvar crônica de mitral em cães / André Martins Gimenes. -- 2016.
133 f. il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Denise Saretta Schwartz.

1. sST2. 2. Biomarcador cardíaco. 3. Degeneração valvar crônica de mitral.
4. Endocardiose. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Fração solúvel de ST2 como biomarcador na insuficiência cardíaca secundária à degeneração valvar crônica de mitral em cães", protocolado sob o nº 2543/2012, utilizando 160 (cento e sessenta) cães, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Denise Saretta Schwartz, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 14/3/2012.

São Paulo, 16 de março de 2016.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: GIMENES, André Martins

Título: **Fração solúvel de ST2 como biomarcador na insuficiência cardíaca secundária à degeneração valvar crônica de mitral em cães**

Tese 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 Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

À minha família:

Aos meus pais Irides e Alice, pela imensa dedicação e amor que sempre me deram e por me apoiar em todos os momentos da minha vida.

À Lívia, minha linda e amada irmã, por se preocupar tanto e torcer sempre por mim. Ao meu irmão de coração Marcelo e ao Pedro, meu querido sobrinho, por me fazer sentir um padrinho tão especial.

À minha linda esposa Fernanda, amor da minha vida, por ser minha companheira e me fazer querer ser alguém melhor todos os dias. Te amo demais.

Aos queridos Seu Luiz, Dona Sandra e Vó Tereza, pelo carinho com que sempre me receberam. Me sinto honrado por fazer parte desta família tão especial.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Dra. Denise Saretta Schwartz, por sua amizade, orientação, paciência e por estar permanentemente disposta a compartilhar seus conhecimentos. Me sinto privilegiado por poder conviver e ainda ser orientado por uma profissional brilhante e, ao mesmo tempo, tão formidável e acessível.

Aos meus queridos amigos Jacqueline Ribeiro de Castro e Matheus Matioli Mantovani, pelo apoio e incentivo nos momentos mais difíceis, pelo inabalável bom humor e por transformar essa longa trajetória em uma incrível experiência de vida.

Aos meus amigos Poliana Claus Silva, Caio Nogueira Duarte, Lilian Caram Petrus, Mariana Yukari Ueda, Bruna Bianchini Real e Letícia Freitas Beccari pela parceria e boas risadas, tornando nossos dias mais leves. Aos companheiros de pós-graduação Paula Hiromi Itikawa e Orson Nobumitsu Kamakura.

Ao meu amigo, médico veterinário Guilherme Teixeira Goldfeder, pela oportunidade de aprender ao seu lado. Seu entusiasmo com a cardiologia veterinária contagiam a todos que o cercam.

À Professora Dra. Denise Tabacchi Fantoni, pela constante disposição em ensinar e incentivar nossa paixão pela pesquisa, de forma sempre tão carinhosa, acessível e bem humorada.

À Professora Dra. Maria Helena Matiko Akao Larsson por ter me concedido a oportunidade de acompanhar a rotina do Serviço de Cardiologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

À Professora Dra. Cristina de Oliveira Massoco de Salles Gomes, pela importante contribuição na metodologia deste estudo.

À coordenadora do programa de Pós-graduação do Departamento de Clínica Médica, Professora Dra. Maria Claudia Araripe Sucupira, por exercer a difícil função que seu cargo exige, sem perder a simpatia e preocupação com todos. Obrigado, Macau.

Aos professores das disciplinas de Semiologia e Clínica Médica de Pequenos Animais pela maravilhosa oportunidade de acompanhá-los durante as aulas práticas,

me inspirando com seus conhecimentos e dedicação ao ensino. Em especial, agradeço às professoras doutoras Márcia Mery Kogika e Alice Maria Melville Paiva Della Libera, além dos professores doutores Wilson Roberto Fernandes e Fernando José Benesi, pelos ensinamentos e excelente convívio.

Agradeço às funcionárias Adelaide F. J. Borges, Carolina Alais Aroma, Maria Aparecida de Freitas e Silvana Rossi Guedes, que me ajudaram sempre de maneira paciente e prestativa. Às funcionárias Clara Satsuki Mori, Carmen Silvia Ribeiro e à médica veterinária Samantha Ive Miyashiro, pelo apoio em nossa pesquisa.

Às médicas veterinárias Khadine, Denise, Andrea, Bruna, Vera e Silvana, pela ajuda e simpatia, mesmo nos dias mais atribulados.

Agradeço também aos enfermeiros Antônio, Carlito, Gilberto e Milton, pela contribuição e ótima convivência ao longo desses anos de pós-graduação.

Aos funcionários do VCM e HOVET (FMVZ/USP) pelo constante auxílio.

A todos vocês, meu sincero agradecimento.

RESUMO

GIMENES, A. M. **Fração solúvel de ST2 como biomarcador na insuficiência cardíaca secundária à degeneração valvar crônica de mitral em cães.** [Soluble ST2 biomarker in heart failure secondary to chronic mitral valve degeneration in dogs]. 2016. 133 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo- São Paulo - 2016

A fração solúvel de ST2 (sST2) é a isoforma circulante do ST2, um receptor membro da família das interleucinas-1. O sST2 é considerado um biomarcador cardíaco, pois é induzido mecanicamente pelo estiramento de cardiomiócitos e fibroblastos em situações de estresse miocárdico secundário à sobrecargas de volume ou de pressão, podendo ser detectado no soro. Este biomarcador tem demonstrado valor prognóstico em humanos, sendo considerado um importante preditor de mortalidade independente. Embora possua capacidade limitada como teste diagnóstico quando utilizado isoladamente, as concentrações séricas de sST2 apresentam-se aumentadas em pacientes humanos com ICC aguda, motivo pelo qual sua utilidade tem sido estudada em associação a outros biomarcadores como o NT-proBNP e a troponina I (cTnI). Entretanto, ainda não há estudos clínicos avaliando o sST2 em cães com degeneração valvar crônica de mitral (DVCM). Portanto, a proposta deste estudo foi determinar a utilidade do sST2, comparado ao NT-proBNP e a cTnI, para a avaliação de cães predispostos ou em diferentes estágios da DVCM. Para tanto, foram selecionados 151 cães em diferentes estágios de DVCM. Os animais foram submetidos à exame clínico, testes laboratoriais, radiografias torácicas, eletrocardiografia, ecodopplercardiografia, mensuração de pressão arterial sistólica e dosagens dos biomarcadores sST2, NT-proBNP e cTnI. Os resultados deste estudo demonstraram que as concentrações de sST2 foram maiores nos cães com ICC secundária a DVCM, em relação aos cães sem ICC. Entretanto, quando os cães foram agrupados de acordo com os estágios da DVCM, não houve diferença nas mensurações de sST2 entre os grupos. As mensurações de NT-proBNP e a cTnI foram maiores tanto nos cães com ICC, em relação aos cães sem ICC, quanto nos estágios mais avançados da DVCM. Observou-se correlação entre o sST2 e os

biomarcadores NT-proBNP e cTnI, assim como entre sST2 e variáveis ecodopplercardiográficas de avaliação da função diastólica. Na análise de curva ROC para o diagnóstico de ICC, as áreas sob a curva (AUC) foram de 0,66 para o sST2, 0,86 para NT-proBNP e 0,76 para cTnI. Na avaliação de prognóstico, observou-se que o grupo de cães com mensurações de sST2 maiores que 40 pg/mL apresentou maior ocorrência de óbito, comparado ao grupo com menores valores de sST2. Concluiu-se que o desempenho do sST2, como teste diagnóstico para ICC, isoladamente, foi limitado e inferior aos outros biomarcadores estudados. Entretanto, a correlação observada entre sST2, NT-proBNP, cTnI e variáveis ecodopplercardiográficas, sugere que o sST2 pode acrescentar valor diagnóstico em uma análise de regressão multivariada. O sST2 parece possuir utilidade como marcador prognóstico independente, sendo preditor de mortalidade em cães com DVCM.

Palavras-chave: sST2. Biomarcador cardíaco. Degeneração valvar crônica de mitral. Endocardiose.

ABSTRACT

GIMENES, A. M. **Soluble ST2 biomarker in heart failure secondary to chronic mitral valve degeneration in dogs.** [Fração solúvel de ST2 como biomarcador na insuficiência cardíaca secundária à degeneração valvar crônica de mitral em cães]. 2016. 133 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo- São Paulo - 2016

The soluble fraction of ST2 (sST2) is the circulating isoform of ST2, a member of the interleukin-1 (IL-1) receptor family. Soluble ST2 is considered a cardiac biomarker, which is induced mechanically by the stretch of cardiomyocytes and fibroblasts in situations of myocardial stress, due to volume or pressure overload, and may be measured in serum. This biomarker has shown prognostic value in human cardiology, and is considered an important independent mortality predictor. Although it holds limited diagnostic capacity by itself, serum concentration of sST2 is increased in acute heart failure human patients, reason why its utility has been studied in association to other biomarkers as NT-proBNP and cardiac troponin I (cTnI). However, studies assessing sST2 in dogs with chronic mitral valve disease (CMVD) are still lacking. Therefore, this study aimed to determine the utility of sST2, compared to NT-proBNP and cTnI, for assessment of dogs predisposed to or in different stages of CMVD. With this purpose, 151 dogs in different stages of CMVD were recruited and submitted to clinical exam, laboratory tests, thoracic radiography, electrocardiography, echocardiography, systolic arterial blood pressure assessment and measurement of the biomarkers sST2, NT-proBNP and cTnI. The results demonstrate that sST2 concentration was higher in dogs in congestive heart failure (CHF) secondary to CMVD compared to dogs without CHF. However, when dogs were stratified according to CMVD stages, it was not possible to differentiate the groups based on sST2 concentrations. NT-proBNP and cTnI concentrations were higher in CHF dogs compared to non-CHF dogs, as well as in more advanced stages of CMVD. There was correlation between sST2 and NT-proBNP and cTnI, and also between sST2 and diastolic function echocardiographic variables. Analysis of ROC curve for HF diagnosis showed areas under the curve (AUC) of 0,66 for sST2; 0,86

for NT-proBNP and 0,76 for cTnI. As for prognosis assessment, sST2 concentrations higher than 40 pg/mL indicated higher mortality compared to groups with lower sST2 values. We conclude that sST2 performance as a stand alone diagnostic test is limited and inferior to the other studied biomarkers. However, the correlation observed between sST2, NT-proBNP, cTnI and echocardiographic variables, suggests that sST2 may add diagnostic value in a multivariate regression analysis. sST2 seems to be a useful independent prognostic marker, and mortality predictor in dogs with CMVD.

Keywords: sST2. Cardiac biomarker. Chronic mitral valve degeneration. Endocardiosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fluxograma dos cães participantes do estudo e distribuição amostral entre grupos, de acordo com os estágios da DVCM.	45
Figura 2 -	Fluxograma dos cães com DVCM e distribuição amostral entre grupos, de acordo com a ausência ou presença de insuficiência cardíaca congestiva (ICC).	46
Figura 3 -	Processamento das amostras para a dosagem de sST2, no Laboratório IgAc (A); lavadora de microplacas para testes ELISA (B).	53
Figura 4 -	Analizador clínico portátil automático, sistema i-STAT® (A) e cartucho para dosagem de troponina I (cTnI) (B).	56
Figura 5 -	Representações box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) dos valores de frequência cardíaca (A), frequência respiratória (B) pressão arterial sistólica (C) e VHS (D), de 79 cães com DVCM.	62
Figura 6 -	Representações box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) das concentrações séricas de sST2 canino, relacionadas ao gênero (A) ou idade (B), de 60 cães pertencentes ao grupo A (controle).	65
Figura 7 -	Representações box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) das concentrações plasmáticas de NT-proBNP, relacionadas ao gênero (A) e idade (B) e concentrações séricas de troponina I (cTnI), relacionadas ao gênero (C) e idade (D), de 60 cães pertencentes ao grupo A.	66
Figura 8 -	Representações box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) das concentrações séricas de sST2, em cães agrupados de acordo com a presença ou não de ICC ao dia 0 (A) e ao dia 60 (B), e entre os estágios da doença valvar crônica de mitral (DVCM), ao dia 0 (C) e ao dia 60 (D).	67
Figura 9 -	Representação box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) das concentrações séricas de sST2 canino mensuradas em dois momentos com intervalo de 60 dias (dia 0 e dia 60) em cães com DVCM, nos estágios B1, B2, C e D.	68

Figura 10 -	Representações box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) das concentrações plasmáticas de NT-proBNP, em cães agrupados de acordo com a presença ou não de ICC ao dia 0 (A) e ao dia 60 (B), e entre os estágios da doença valvar crônica de mitral (DVCM), ao dia 0 (C) e ao dia 60 (D).	70
Figura 11 -	Representação box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) das concentrações plasmáticas de NT-proBNP canino mensuradas em dois momentos com intervalo de 60 dias (dia 0 e dia 60) em cães com DVCM, nos estágios B1, B2, C e D.....	71
Figura 12 -	Representações box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) das concentrações séricas de Troponina I (cTnI), em cães agrupados de acordo com a presença ou não de ICC ao dia 0 (A) e ao dia 60 (B), e entre os estágios da doença valvar crônica de mitral (DVCM), ao dia 0 (C) e ao dia 60 (D).	72
Figura 13 -	Representação box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) das concentrações plasmáticas de NT-proBNP canino mensuradas em dois momentos com intervalo de 60 dias (dia 0 e dia 60) em cães com DVCM, nos estágios B1, B2, C e D.....	73
Figura 14 -	Representações de correlação linear entre as concentrações dos biomarcadores sST2 e NT-proBNP ao dia 0 (A) e dia 60 (B), e entre sST2 e cTnI ao dia 0 (C) e dia 60 (D), por meio do coeficiente de Spearman ($P < 0,05$).	74
Figura 15 -	Representações das curvas ROC (receiver operating characteristic) de sST2 (A), NT-proBNP (C) e Troponina I (E) para a predição de ICC em 79 cães com DVCM; e de sST2 (B), NT-proBNP (D) e Troponina I (F) em 139 cães do estudo.	77
Figura 16 -	Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier para análise de mortalidade durante o período de acompanhamento do estudo, de acordo com valores de corte para sST2 (A), Troponina I (B) e NT-proBNP (C e D).	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Dados demográficos e resultados dos achados do histórico, exame físico, aferição da pressão arterial, VHS e ECG realizados em 139 cães distribuídos conforme o estágio da doença valvar crônica de mitral.....	60
Tabela 2 -	Valores medianos e percentis (P25%-75%) das variáveis ecocardiográficas avaliadas em 60 cães hígidos (grupo A) e 79 cães em diferentes estágios da DVCM (B1, B2, C e D), ao primeiro momento de avaliação (dia 0).	63
Tabela 3 -	Valores de análise de correlação entre variáveis ecocardiográficas e concentrações dos biomarcadores sST2, NT-proBNP e Troponina I (cTnI) por meio do coeficiente de Spearman ($P < 0,05$).....	75
Tabela 4 -	Análise de área sob a curva ROC (Receiver-Operator Characteristic) e valores de corte das concentrações dos biomarcadores sST2, NT-proBNP e Troponina I (cTnI), para a detecção de ICC, em 79 cães com DVCM.....	78
Tabela 5 -	Desempenho dos testes de NT-proBNP e cTnI no auxílio ao diagnóstico da ICC em 139 cães.	81
Tabela 6 -	Desempenho dos testes de sST2, NT-proBNP e cTnI na predição de mortalidade em 79 cães com DVCM.....	83

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação da DVCM segundo o Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (American College of Veterinary Internal Medicine - ACVIM).	44
Quadro 2 - Coeficientes de variação intraensaio (repetibilidade) e coeficientes interensaio (reprodutibilidade) para validação do Kit ELISA canino IL-1Srl (BG-CAN11421, Cambridge, USA).	54

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - Dados dos cães selecionados para o estudo segundo os dados de identificação: nome, número do prontuário, definição racial, idade, sexo, alocação conforme estágio da DVCM e peso, Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016	102
APÊNDICE B - Dados dos cães selecionados para o estudo segundo os dados da ausculta cardiopulmonar, pressão arterial sistólica (PAS), VHS e ECG, Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016	105
APÊNDICE C - Valores das variáveis ecocardiográficas, adquiridas nos modos bidimensional e M, avaliadas ao primeiro momento de avaliação (dia 0), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016.....	110
APÊNDICE D - Valores das variáveis ecocardiográficas, adquiridas nos modos bidimensional e M, avaliadas ao segundo momento de avaliação (dia 60), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016	113
APÊNDICE E - Valores das variáveis ecocardiográficas, adquiridas no modo Doppler, avaliadas ao primeiro momento de avaliação (dia 0), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016.....	115
APÊNDICE F - Valores das variáveis ecocardiográficas, adquiridas no modo Doppler, avaliadas ao segundo momento de avaliação (dia 60), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016.....	118
APÊNDICE G - Concentrações séricas dos biomarcadores no primeiro momento de avaliação (dia 0), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015)- São Paulo - 2016	120

APÊNDICE H - Concentrações séricas dos biomarcadores no segundo momento de avaliação (dia 60), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016	123
APÊNDICE I - Termo de consentimento livre e esclarecido, Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016	125
APÊNDICE J - Ficha clínica de atendimento, Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016	127
APÊNDICE K - Ficha de avaliação em formato eletrônico para análise dos desfechos dos cães incluídos no estudo, Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016	133

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACVIM	American College of Veterinary Internal Medicine
AD	átrio direito
AE	átrio esquerdo
AE/Ao	relação átrio esquerdo / aorta
Am _{par}	pico de velocidade diastólica tardio tecidual parietal
Ao	aorta
cTnl	troponina cardíaca I
CV	coeficiente de variação
DIVED	diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole
DIVEs	diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole
%DIVED	mudança percentual do diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole
%DIVEs	mudança percentual do diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole
DVCM	degeneração valvar crônica de mitral
ECG	eletrocardiograma
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
Em _{par}	pico de velocidade diastólica inicial tecidual parietal
FC	frequência cardíaca
FE%	fração de ejeção
FS%	fração de encurtamento
FR	frequência respiratória

FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
HOVET	Hospital Veterinário
IC	insuficiência cardíaca
ICC	insuficiência cardíaca congestiva
NT-proBNP	pro-peptídeo natriurético tipo B
Onda A	pico de velocidade de enchimento ventricular inicial
Onda E	pico de velocidade de enchimento ventricular tardio
p	valor de significância
P ₂₅	percentil 25%
P ₇₅	percentil 75%
PAS	pressão arterial sistólica
Par.	Doppler tecidual parietal
RS	ritmo sinusal
ROC	<i>receiver operating characteristic</i>
SNS	sistema nervoso simpático
SRD	sem raça definida
sST2	fração solúvel de ST2
TRIV	tempo de relaxamento isovolumétrico
USP	Universidade de São Paulo
VCM	Departamento de Clínica Médica
VHS	<i>vertebral heart size</i>
VE	ventrículo esquerdo
VD	ventrículo direito

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
-	negativo
+	positivo
>	maior
<	menor
...	dado inexistente
dL	decilitro
g	grama
kg	quilograma
L	litro
m	metro
mg	miligrama
mL	mililitro
ng	nanograma
pg	picograma
s	segundo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	26
2	REVISÃO DE LITERATURA	28
3	HIPÓTESE	40
4	OBJETIVOS	41
4.1	OBJETIVO GERAL	41
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
5	MATERIAL E MÉTODOS	42
5.1	POPULAÇÃO ESTUDADA	42
5.2	DELINEAMENTO DO ESTUDO, AMOSTRAGEM E ESTADIAMENTO DOS PACIENTES	43
5.3	EXAME FÍSICO	47
5.4	EXAMES CARDIOLÓGICOS COMPLEMENTARES	47
5.4.1	Pressão arterial sistólica	48
5.4.2	Eletrocardiografia	48
5.4.3	Ecodopplercardiografia	49
5.4.4	Radiografia torácica	50
5.5	OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS	51
5.6	DOSAGENS DOS BIOMARCADORES	52
5.6.1	Dosagens do sST2	52
5.6.2	Dosagens do NT-proBNP	55
5.6.3	Dosagens de Troponina I	55
5.7	AVALIAÇÃO DA PROGRESSÃO CLÍNICA E SOBREVIVÊNCIA	56
5.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	57
6	RESULTADOS	59
6.1	DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS	59
6.2	VARIÁVEIS ECODOPPLERCARDIOGRÁFICAS	62
6.3	BIOMARCADORES NO GRUPO CONTROLE	64
6.4	FRAÇÃO SOLÚVEL DE ST2 (sST2)	66
6.5	N-TERMINAL PEPTÍDEO TIPO B (NT-proBNP)	69

6.6	TROPONINA I (cTnI)	71
6.7	ANÁLISE DE CORRELAÇÃO.....	73
6.8	SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DOS BIOMARCADORES	76
6.9	ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA	79
6.10	DESEMPENHO DOS TESTES.....	80
7	DISCUSSÃO	84
8	CONCLUSÕES	90
9	LIMITAÇÕES DO ESTUDO	91
	REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

A degeneração valvar crônica de mitral (DVCM), também denominada doença mixomatosa da valva mitral, é a cardiopatia de maior ocorrência em pequenos animais, sendo responsável por cerca de 75% dos casos de doença cardíaca em cães (HÄGGSTRÖM; HÖGLUND; BORGARELLI, 2009; BORGARELLI; HÄGGSTRÖM, 2010). Acomete principalmente cães idosos de raças de pequeno porte, sendo aproximadamente 1,5 vezes mais frequente nos machos do que nas fêmeas (ATKINS et al., 2009).

A DVCM é considerada uma condição relativamente benigna na espécie canina, considerando a história natural da doença e o baixo risco de morte súbita. Entretanto, a proporção exata de cães que progridem para insuficiência cardíaca congestiva (ICC) ainda não é conhecida (HÄGGSTRÖM; HÖGLUND; BORGARELLI, 2009). Embora muitos cães permaneçam sem manifestações clínicas por anos, ou mesmo por toda a vida, graves complicações podem ocorrer com a progressão da doença e com o surgimento da ICC (KVART et al., 2002; BORGARELLI et al., 2008; CHETBOUL; TISSIER, 2012).

A regurgitação valvar mitral promove a sobrecarga de volume das câmaras cardíacas esquerdas, com consequente aumento do trabalho cardíaco, hipertrofia excêntrica e mudanças na matriz intercelular (ATKINS et al., 2009).

O remodelamento e alteração na matriz intercelular são preponderantes para o surgimento da ICC. A lesão ou perda de cardiomiócitos é seguida pela substituição por tecido conjuntivo fibroso, sobrecarga hemodinâmica, remodelamento ventricular, estresse oxidativo inflamatório e disfunção miocárdica (BARTUNEK, 2009). As alterações estruturais e mudanças hemodinâmicas causadas pela evolução da DVCM levam à disfunção diastólica progressiva, fator determinante para o início do desenvolvimento da ICC (SCHOBER et al., 2010).

A síndrome ICC é identificada por meio de exame clínico, auxiliado por exames complementares, que incluem exame radiográfico do tórax, eletrocardiografia, ecocardiografia e mensuração da pressão arterial sistêmica. Apesar de auxiliarem no diagnóstico, os métodos comumente empregados na

rotina, apresentam limitações quanto à previsão da descompensação e predição de mortalidade (SCHOBER et al., 2010).

O prognóstico e a resposta ao tratamento em pacientes com grau similar de disfunção miocárdica frequentemente diferem. A sobrevida de cães com DVCM, que evoluem para insuficiência cardíaca congestiva (ICC), pode estar relacionada a vários fatores, incluindo a adesão ao tratamento e cuidados adequados por parte do responsável, surgimento de complicações cardiovasculares, como hipertensão pulmonar ou ruptura de cordas tendíneas, e presença de comorbidades (BORGARELLI et al., 2008).

A necessidade de diagnósticos mais precisos e precoces, da estratificação de risco dos pacientes, bem como do acompanhamento terapêutico, tem suscitado a busca contínua por novos biomarcadores como ferramentas úteis no manejo da ICC (BARTUNEK, 2009; BOSWOOD, 2009).

O ST2 solúvel (sST2) é a isoforma circulante de um receptor, membro da família das interleucinas-1 (IL-1), que tem como principal ligante a interleucina-33 (IL-33) (REHMAN; MUELLER; JANUZZI, 2008). Por apresentar valores aumentados em situações de estresse miocárdico secundário a sobrecargas de volume ou de pressão (SHAH; JANUZZI, 2010) e demonstrar-se como marcador de risco na ICC, o sST2 tem sido relatado como um importante biomarcador cardíaco em pacientes humanos (PASCUAL-FIGAL et al., 2009; KY et al., 2011; SHAH et al., 2011).

Entretanto, ainda não há estudos clínicos que demonstrem a utilidade do sST2 como biomarcador em cães com DVCM. Portanto, a proposta deste estudo foi determinar o papel do sST2, comparado a outros biomarcadores, como o peptídeo natriurético N-terminal tipo B (NT-proBNP) e a troponina cardíaca I (cTnI), para a avaliação de cães predispostos ou em diferentes estágios da DVCM.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A degeneração valvar crônica de mitral (DVCM) é caracterizada pela progressiva degeneração mixomatosa da valva mitral, de forma isolada ou em associação à valva tricúspide, promovendo a coaptação incompleta de seus folhetos com consequente regurgitação valvar (BORGARELLI et al., 2008). Em torno de 60% dos casos, apenas a valva mitral é afetada, em 30% as duas valvas atrioventriculares (mitral e tricúspide) são acometidas e em apenas 10% somente a valva tricúspide está degenerada (FOX, 2012).

A sobrecarga crônica de volume, causada pela insuficiência mitral, resulta em gradativa hipertrofia excêntrica do átrio e ventrículo esquerdos (ATKINS et al., 2009). Os cães afetados podem compensar a regurgitação mitral durante anos, porém, com a progressão da doença, a insuficiência cardíaca congestiva (ICC) eventualmente se desenvolve (KVART et al., 2002; LJUNGVALL et al., 2010; CHETBOUL; TISSIER, 2012).

O processo de remodelamento cardíaco, decorrente da sobrecarga de volume, é complexo e envolve alterações na matriz intercelular, mudanças na composição e massa ventriculares, lesão de cardiomiócitos e substituição por tecido conjuntivo fibroso (ATKINS et al., 2009; FOX, 2012). Normalmente a disfunção sistólica parece ocorrer apenas em fases mais avançadas da DVCM (KITTLESON et al., 1984; MCGINLEY et al., 2007). Entretanto, as alterações hemodinâmicas e progressiva disfunção diastólica do ventrículo esquerdo afetam o desempenho cardíaco geral e determinam o aparecimento da síndrome ICC (SCHOBER et al., 2010).

Devido à alta prevalência em cães e graves consequências relacionadas ao potencial desenvolvimento de ICC, o diagnóstico preciso da DVCM e o acompanhamento de sua evolução são preocupações clínicas importantes, para prever o risco de descompensação e estimar o prognóstico (CHETBOUL; TISSIER, 2012).

Uma abordagem clínica abrangente para avaliar a gravidade da regurgitação mitral deve considerar o histórico, exame físico, exames

laboratoriais, mensuração da pressão arterial sistêmica, avaliações radiográficas de tórax, eletrocardiograma (ECG) e ecocardiograma.

A ecocardiografia transtorácica é atualmente considerada o método diagnóstico não-invasivo de escolha para detectar precocemente lesões valvares, investigar quanto à gravidade da regurgitação e seu impacto sobre o remodelamento cardíaco, avaliar a função miocárdica e estimar a pressão arterial pulmonar (CHETBOUL; TISSIER, 2012). As alterações ecocardiográficas mais importantes incluem a compreensão da natureza da lesão valvar, a gravidade da regurgitação mitral, o grau de remodelamento cardíaco e a presença de disfunção sistólica e/ou diastólica (BONAGURA; SCHOBBER, 2009).

A identificação da degeneração valvar é feita pela visualização de folhetos atrioventriculares espessados, no modo bidimensional, à janela paraesternal esquerda, no corte apical quatro câmaras. Um dos métodos mais utilizados para avaliar a gravidade da regurgitação mitral consiste em calcular a proporção máxima da área do jato regurgitante em relação ao átrio esquerdo, com o uso do Doppler colorido, enquanto a velocidade da regurgitação valvar é determinada com o modo Doppler contínuo. A função diastólica, por sua vez, é avaliada pelo padrão das ondas do fluxo transmitral (ondas E e A), com auxílio do Doppler pulsado. Outras variáveis de função diastólica são o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e a movimentação do anel mitral, com a identificação das ondas E e A miocárdicas parietais (E_{par} e A_{par} , pelo modo Doppler tecidual). Já a pressão arterial pulmonar é estimada com a determinação do gradiente de pressão entre átrio e ventrículo direitos, pela avaliação do jato regurgitante tricúspide, com o modo Doppler contínuo (BOON, 2011).

Devido à relação demonstrada entre disfunção diastólica e descompensação cardíaca, variáveis ecocardiográficas têm sido propostas para auxiliar na detecção de ICC em cães, como a relação entre a velocidade máxima da onda E do fluxo transmitral e o tempo de relaxamento isovolumétrico ($E/TRIV$), além da relação entre ondas E e E miocárdica parietal (E/E_{par}) (SCHOBBER et al., 2010). Ainda que as variáveis ecocardiográficas sejam, em sua maioria, quantitativas, a variabilidade intra e inter-observador devem ser consideradas, principalmente nas situações em que o ecocardiograma seja determinante para a tomada de decisão quanto ao tratamento do paciente (CHETBOUL et al., 2004).

Embora o ecocardiograma seja um exame complementar importante na avaliação cardiológica visando identificar a descompensação da cardiopatia, a sobrecarga de volume e alterações hemodinâmicas complexas, associadas com a progressão da DVCM, muitas vezes dificultam a previsão e identificação da síndrome ICC (CHETBOUL; TISSIER, 2012).

Pacientes em ICC apresentam frequentemente manifestações clínicas inespecíficas, o que dificulta o rápido estabelecimento do diagnóstico. Dispneia, ortopneia e dispneia paroxística noturna são consequências do quadro congestivo, enquanto outras manifestações, como fadiga, fraqueza muscular e intolerância ao exercício, podem ser resultado de débito cardíaco inadequado. A heterogeneidade de apresentações clínicas muitas vezes resulta em atrasos no diagnóstico definitivo e no início do tratamento, fatores relacionados com mau prognóstico (GAGGIN; JANUZZI, 2013).

A mensuração de biomarcadores na medicina humana, objetivando estabelecer o diagnóstico, acompanhar a progressão da doença, estimar prognóstico e monitorar a resposta à terapia de doenças crônicas tem melhorado a assistência ao paciente, tornando a tomada de decisão clínica mais eficiente e rápida (TAUB; GABBAI-SALDATE; MAISEL, 2010).

A pesquisa para identificação de novos biomarcadores circulantes para o diagnóstico e prognóstico de doenças cardiovasculares é de grande interesse científico e clínico. No entanto, alguns critérios devem ser considerados ao avaliar a relevância clínica de um novo biomarcador. Deve ser um marcador facilmente mensurável, adicionar novas informações e trazer algum benefício ao paciente (MORROW; DE LEMOS, 2007). Vários novos biomarcadores cardiovasculares foram identificados na última década. Entretanto, relativamente poucos cumpriram estes critérios e a maioria não foi integrada à prática clínica (MAY KHAN; KY, 2012).

Atualmente os biomarcadores cardíacos podem ser classificados em: marcadores de lesão ou necrose de cardiomiócitos (troponinas cardíacas), indicadores de inflamação sistêmica (citocinas pró-inflamatórias, proteína C reativa, fator de necrose tumoral- α , fator de diferenciação do crescimento-15), marcadores de estresse ou distensão de cardiomiócitos (peptídeos natriuréticos, adrenomedulina, pro-adrenomedulina e sST2), marcadores de remodelamento e

fibrose (galectina-3, pró-peptídeos de colágeno, metaloproteinases e sST2) e marcadores neuro-hormonais (endotelinas e peptídeos natriuréticos) (BOSWOOD, 2009; SANTHANAKRISHNAN et al., 2012).

O ST2 é um receptor membro da família das interleucinas-1 (IL-1), que apresenta-se em duas isoformas: uma fração transmembrana (ST2L) e uma fração solúvel (sST2) que pode ser detectada no soro (SABATINE et al., 2008; BROCH et al., 2012). Ambas as frações do ST2 são induzidas mecanicamente pelo estiramento de cardiomiócitos e fibroblastos (WEINBERG et al., 2002), em situações de estresse miocárdico secundário à sobrecarga de volume ou de pressão (SHAH; JANUZZI, 2010). A citocina ligante do ST2 é a interleucina-33 (IL-33), recentemente descrita como um membro da família IL-1, expressa em cardiomiócitos, fibroblastos e células de músculo liso de artérias coronárias humanas (DEMYANETS et al., 2013).

A IL-33 também é liberada na presença de distensão de cardiomiócitos, ligando-se ao ST2L e promovendo efeitos potencialmente cardioprotetores, inibindo hipertrofia e fibrose miocárdica (JANUZZI et al., 2007; SANADA et al., 2007). Embora a interação entre o sST2 e IL-33 ainda não seja totalmente conhecida, acredita-se que esta ligação bloqueie o efeito anti-hipertrofico da IL-33, modulando o processo de remodelamento cardíaco (SANADA et al., 2007).

Estudos em humanos tem apontado o sST2 como um importante marcador de risco na insuficiência cardíaca crônica e na deterioração da função ventricular, contribuindo para a avaliação prognóstica e predição de eventos em cardiopatas (PASCUAL-FIGAL et al., 2009; KY et al., 2011; SHAH et al., 2011).

O grau de comprometimento da função miocárdica e a presença de ICC influenciam as concentrações séricas de sST2. Pacientes humanos em ICC com fração de ejeção (FE) reduzida apresentaram valores maiores de sST2 quando comparados aos pacientes em ICC com FE preservada. Entretanto, o sST2 foi considerado um preditor de mortalidade independente, em um período de até um ano, mesmo nos pacientes com função sistólica preservada (MANZANO-FERNÁNDEZ et al., 2011). Um estudo posterior corroborou com estes resultados, demonstrando que o sST2 conseguiu fornecer informações prognósticas mais relevantes em pacientes em ICC com FE reduzidas. Quando em associação ao

NT-proBNP, observou-se melhora da acurácia prognóstica em ambos os grupos de pacientes (FRIÕES et al., 2015).

O sST2 tem sido estudado em associação ao NT-proBNP para avaliar sua utilidade como um biomarcador independente ou que contribua, dentro de um perfil de biomarcadores, para se estabelecer diagnóstico, prognóstico ou estimar risco em pacientes em insuficiência cardíaca (IC). Em um estudo conduzido em pacientes humanos apresentando dispneia aguda em um serviço médico de emergências, o sST2 conseguiu diferenciar os pacientes que estavam em IC aguda, embora o NT-proBNP tenha sido superior para definir este diagnóstico. Neste mesmo estudo, o sST2 apresentou maior poder preditivo de mortalidade em até um ano após o atendimento, independente do NT-proBNP (JANUZZI et al., 2007).

Posteriormente, outro estudo também conduzido em pacientes humanos manifestando dispneia aguda, comprovou o sST2 como forte preditor de mortalidade no período de um ano de acompanhamento. Observou-se ainda que apenas o NT-proBNP apresentou correlação com índices ecocardiográficos, enquanto o sST2 não se correlacionou com as mesmas variáveis de avaliação da função diastólica. Estes resultados sugerem que os mecanismos que resultam no aumento das concentrações sST2 são, em parte, fisiologicamente distintos tanto da liberação de peptídeo natriurético do tipo B quanto das provas de imagem relacionadas ao aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo (SHAH et al., 2011).

Ainda que estes estudos tenham demonstrado valor para estimar o prognóstico independente do NT-proBNP, é importante salientar que a associação do sST2 com o peptídeo natriurético tipo B é relatada como preditor mais forte de mortalidade (REHMAN; MUELLER; JANUZZI, 2008).

A mensuração de biomarcadores para o reconhecimento de ICC e prognóstico em 995 pacientes humanos com dor torácica, atendidos em um serviço de emergência e recrutados prospectivamente, demonstrou um valor diagnóstico do sST2 semelhante ao do NT-proBNP. Nesta população, comparado ao peptídeo natriurético tipo B, o sST2 obteve menor sensibilidade para o diagnóstico de ICC (73,5% contra 88,2%), porém com maior especificidade (79,6% contra 66,2%). Se ambos sST2 e NT-proBNP estavam elevados, a

especificidade para o diagnóstico de ICC aumentava para 88,6%, porém às custas de uma diminuição da sensibilidade (68,6%). O peptídeo natriurético não conseguiu identificar 4 de 35 indivíduos com desfecho primário, enquanto dois destes foram identificados pelo sST2, sugerindo que a combinação de ambos pode fornecer um diagnóstico mais preciso de ICC (ALDOUS et al., 2012). A associação entre valores séricos aumentados de sST2, com o diagnóstico ou reincidência de ICC em até 30 dias, também foi comprovada em um estudo prospectivo multicêntrico, com 295 pacientes humanos (HENRY-OKAFOR et al., 2012).

Dados de um estudo prospectivo, em pacientes humanos em insuficiência cardíaca crônica (classes III e IV, pela classificação da *New York Heart Association* - NYHA), demonstraram que o sST2 foi preditor de mortalidade independente dos peptídeos natriuréticos (NT-proANP e NT-proBNP) (WEINBERG et al., 2003). Entretanto, a associação de sST2 e NT-proBNP tem demonstrado melhor valor preditivo prognóstico em pacientes humanos, com resultados superiores aos observados em mensurações isoladas destes marcadores, sugerindo que a avaliação por meio de um perfil de biomarcadores pode ser mais eficiente para a estratificação de risco no cardiopata (REHMAN; MUELLER; JANUZZI, 2008; PASCUAL-FIGAL et al., 2009; KY et al., 2011).

Concentrações aumentadas de sST2 foram encontradas em pacientes humanos portadores de IC, que apresentaram morte repentina de causa cardíaca, em estudo retrospectivo multicêntrico. Quando o sST2 foi avaliado em conjunto com mensurações de NT-proBNP, a combinação de ambos os biomarcadores aumentou o valor prognóstico em um modelo de regressão multivariada. Apenas 4% dos pacientes que morreram de causa cardíaca tinham valores considerados normais de sST2 e NT-proBNP, enquanto 71% apresentavam níveis aumentados de um dos biomarcadores estudados (PASCUAL-FIGAL et al., 2009).

Avaliações seriadas para determinar as mudanças nas concentrações de sST2 em pacientes humanos hospitalizados em IC descompensada, demonstraram valor prognóstico, apresentando poder preditivo de mortalidade em um período de 90 dias, associado ou não a mensurações de NT-proBNP. Portanto, a monitorização das mudanças séricas de sST2 pode ser uma ferramenta adicional para guiar o tratamento de pacientes em ICC (BOISOT et al.,

2008). Com resultados semelhantes, um estudo mais recente demonstrou que mensurações seriadas de sST2, associadas as de NT-proBNP, trouxeram benefício no acompanhamento de pacientes hospitalizado em ICC aguda (MAISEL et al., 2015).

Apesar de não ser suficientemente específico para justificar sua utilização isoladamente como biomarcador diagnóstico de IC em pacientes humanos, a determinação de concentrações séricas de sST2 demonstrou um importante poder preditivo de risco cardiovascular, com características que fundamentam seu uso na rotina clínica, voltado à estratificação de risco e prognóstico (JANUZZI, 2013; SCHMITTER; COTTER; VOORS, 2013; JANUZZI; MEBAZAA; DI SOMMA, 2015).

Desde a sua descoberta como participante fundamental no processo de fibrose e hipertrofia de cardiomiócitos em pacientes em IC, a relevância clínica da mensuração de sST2 já foi estabelecida em humanos. Em pacientes com IC descompensada, as concentrações séricas de sST2 detém importante valor prognóstico para o risco de curto, médio e longo prazo, para os principais eventos cardiovasculares, além de demonstrar valor aditivo substancial em relação a outros biomarcadores e demais variáveis clínicas (JANUZZI; MEBAZAA; DI SOMMA, 2015).

No entanto, os biomarcadores mais utilizados atualmente na rotina cardiológica, para avaliação de insuficiência cardíaca (IC) em pacientes humanos, são os peptídeos natriuréticos, principalmente o peptídeo natriurético tipo B (BNP) e N-terminal BNP (NT-proBNP) (VAN KIMMENADE; JANUZZI, 2009; SANTHANAKRISHNAN et al., 2012). O BNP e o NT-proBNP são hormônios produzidos a partir da clivagem de pré-proBNP, um precursor que é liberado de cardiomiócitos, quando há estiramento da parede ventricular. O BNP é considerado um produto ativo, com meia vida de aproximadamente 20 minutos na circulação, enquanto o NT-proBNP é a porção estável com meia vida mais longa, o que resulta em altos níveis circulantes e menor flutuação de sua concentração sérica. Por este motivo, o NT-proBNP é mais utilizado como biomarcador, em comparação ao BNP (VAN KIMMENADE; JANUZZI, 2009; TAUB; GABBAI-SALDATE; MAISEL, 2010). O NT-proBNP é formado numa proporção de 1:1 com

BNP, portanto sua dosagem reflete a quantidade biologicamente ativa de BNP (REYNOLDS; OYAMA, 2008).

Em estudo que avaliou biomarcadores em pacientes humanos em insuficiência cardíaca de causa não isquêmica, foram observadas correlações positivas do sST2 com o peptídeo natriurético tipo A (ANP) ($r=0,36$, $P<0,0001$) e NT-proBNP ($r=0,36$, $P<0,0001$) (WEINBERG et al., 2003).

Em comparação ao NT-proBNP, o ANP foi considerado um biomarcador mais adequado para a avaliação de mudanças hemodinâmicas agudas, em cães anestesiados e submetidos a sobrecarga de volume por fluidoterapia. Embora os dois biomarcadores tenham apresentado aumento em suas concentrações, o ANP demonstrou redução mais rápida de seus valores após o término da infusão e aplicação intravenosa de diurético (diminuição de pré-carga) (HORI et al., 2010).

Ao contrário do peptídeo natriurético tipo A (ANP), que possui alta conservação entre as espécies de mamíferos, o BNP apresenta considerável espécie-especificidade. Portanto, há necessidade de testes específicos para dosagem de peptídeo natriurético tipo B para os cães ou gatos, impossibilitando a utilização de kits humanos (REYNOLDS; OYAMA, 2008; BOSWOOD, 2009).

A utilidade dos peptídeos natriuréticos, como ferramenta no auxílio ao diagnóstico e ao prognóstico, vem sendo comprovada na medicina veterinária (DEFRANCESCO et al., 2007; PROSEK et al., 2007; FOX et al., 2009, 2015; REYNOLDS et al., 2012). Em uma análise de sobrevida de cães em IC descompensada, secundária à DVCM, o grupo de pacientes com níveis mais elevados de NT-proBNP demonstrou um período livre de eventos (morte ou progressão da doença) menor (134 dias), comparado ao grupo com concentrações mais baixas deste biomarcador (669 dias) (EBISAWA et al., 2012).

Um estudo prospectivo com 68 cães de diferentes raças, sugeriu que a avaliação de peptídeos natriuréticos pode auxiliar na detecção da progressão da DVCM assintomática, com o gradativo aumento das pressões de enchimento e iminente ICC. Entretanto, o ecocardiograma forneceu informações mais específicas a respeito da estrutura cardíaca (TARNOW et al., 2009). Já na cardiomiopatia dilatada, o NT-proBNP e a Troponina I (cTnI) foram bons indicadores de mortalidade, apresentando valores significativamente aumentados

nos cães que morreram em um período de 60 dias de observação (NOSZCZYK-NOWAK, 2012).

A avaliação de NT-proBNP foi útil para estabelecer ou excluir o diagnóstico de ICC em 330 cães manifestando tosse ou dispneia, revelando concentrações plasmáticas significativamente mais elevadas em função da gravidade da ICC (DEFRANCESCO et al., 2007). Outros estudos corroboraram com estes resultados, atestando que mensurações de NT-proBNP diferenciaram cães apresentando dispneia secundária a cardiopatia de outras causas respiratórias primárias, indicando que este biomarcador auxiliaria o diagnóstico precoce de ICC em cães se existissem testes rápidos como os disponíveis na medicina humana (PROSEK et al., 2007; BOSWOOD et al., 2008; FOX et al., 2015).

Determinações plasmáticas de NT-proBNP, além de medidas ecocardiográficas e radiográficas de tamanho cardíaco, incluindo relação átrio esquerdo/aorta (AE:Ao), medida do diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole (DIVEd) e *Vertebral Heart Score* (VHS), demonstraram auxiliar na estimativa de risco para o aparecimento de ICC em cães com DMVD em um estudo retrospectivo (REYNOLDS et al., 2012).

Na espécie felina, a mensuração de NT-proBNP também demonstrou ser eficiente para distinguir dispneia por ICC de outras causas de origem respiratória, em um estudo clínico prospectivo multicêntrico com 161 gatos (FOX et al., 2009).

A avaliação das concentrações de NT-proBNP tornou-se um procedimento estabelecido na prática clínica atual, sendo considerado padrão ouro para o diagnóstico e manejo de pacientes humanos em IC (GAGGIN; JANUZZI, 2013; LASSUS et al., 2013). No entanto, as concentrações circulantes de peptídeos natriuréticos são fortemente influenciados por idade, sexo, massa corporal, níveis de hemoglobina e função renal (BROCH et al., 2012; SANTHANAKRISHNAN et al., 2012). Assim, a mensuração isolada de NT-proBNP pode não refletir a gravidade da IC, principalmente em casos de IC com fração de ejeção preservada ou em pacientes em edema pulmonar (SANTHANAKRISHNAN et al., 2012).

Do mesmo modo, deve-se considerar a variação dos peptídeos natriuréticos entre as raças caninas. Labradores Retrievers e Terra-novas clinicamente saudáveis demonstraram valores medianos de NT-proBNP três vezes superiores aos de Dachshunds, enquanto as raças Pastor Alemão e

Cavalier King Charles Spaniel apresentaram ANP duas vezes superiores aos de Dobermann Pinschers (SJÖSTRAND et al., 2014).

A variabilidade biológica do NT-proBNP e da Troponina I sugere que, após estabelecido o diagnóstico, estes testes possuem maior utilidade em avaliações seriadas, para determinação do comportamento destes biomarcadores no indivíduo ao longo do tempo, ao invés da comparação com um intervalo de referência de base populacional (RUAUX et al., 2015).

As troponinas são componentes regulatórios proteicos do sistema contrátil, compostas por três subunidades (troponinas C, T e I) que atuam como um interruptor molecular de contração dos cardiomiócitos, regulando a ligação do cálcio e interação entre actina e miosina (LANGHORN; WILLESEN, 2015). Na ocorrência de lesão de cardiomiócitos, a troponina se dissocia da actina, extravasa para o espaço extracelular e, posteriormente, ganha a circulação. As subunidades troponina I cardíaca (cTnI) e troponina T cardíaca (cTnT) são exclusivas do tecido cardíaco, sendo consideradas marcadores específicos de lesão celular miocárdica ou necrose. Em pacientes saudáveis, pouca ou nenhuma troponina é detectável no sangue. Devido à sua elevada especificidade para o tecido cardíaco, dosagens de cTnI ou cTnT circulante são consideradas importantes ferramentas diagnósticas em serviços de emergência para detectar infarto agudo do miocárdio em pacientes humanos (OYAMA, 2013).

Atualmente, o principal uso clínico das concentrações de troponinas em pacientes humanos é direcionado à detecção de isquemia miocárdica secundária à doença vascular coronária, principalmente aterosclerose (ALPERT; THYGESEN, 2000). Embora esta não seja uma condição que ocorra geralmente em pacientes veterinários, mensurações de troponinas foram avaliadas em diferentes situações em cães e gatos, para avaliar os efeitos de cardiopatias e de causas extracardíacas sobre a integridade do miocárdio (OYAMA; Sisson, 2004; HAGMAN et al., 2007; FALK et al., 2013; LANGHORN; WILLESEN, 2015).

Valores de troponinas também apresentam-se aumentados na doenças cardíacas crônicas, embora não na mesma medida em que ocorre no infarto agudo de miocárdio (FALK et al., 2013; OYAMA, 2013). Nas diferentes condições de injúria em cardiomiócitos, em que tem sido avaliada, a troponina apresentou-se elevada, motivo pelo qual tem sido interpretada como um importante marcador

sensível e específico de lesão em cardiomiócitos, embora seja um teste limitado quanto à discriminação entre as possíveis causas da lesão miocárdica (BOSWOOD, 2009).

Assim como ocorre com o BNP, as troponinas também apresentam variabilidade quanto às suas concentrações. Em situações de comprometimento da função renal, as concentrações de troponina estão frequentemente aumentadas, tornando difícil sua interpretação. Mesmo sendo um biomarcador específico de origem cardíaca, tem sido discutido se o aumento de seus valores na presença de insuficiência renal seja decorrente de lesão miocárdica ou pela depuração renal reduzida das troponinas (LANGHORN; WILLESEN, 2015). Variações na concentração, relacionadas às diferentes raças caninas também foram relatadas. Cães galgos possuem concentrações de cTnI maiores das observadas em outras raças, o que pode ser em parte resultado da maior relação entre massa cardíaca e corporal, e pela parede livre do ventrículo esquerdo ser mais espessa nesses animais (ZALDÍVAR-LÓPEZ et al., 2011).

Embora existam limitações e variabilidade, que devem ser consideradas, os biomarcadores podem fornecer valor aditivo importante para o estabelecimento do diagnóstico, acompanhamento terapêutico e estratificação de risco na ICC. Particularmente o sST2 pode detectar características de risco não identificadas por meio de marcadores de prognóstico convencionais, melhorando os modelos de previsão de risco tanto a curto prazo (reincidência em até 30 dias) quanto de mortalidade por ICC a longo prazo (LASSUS et al., 2013).

Comparado aos peptídeos natriuréticos e às troponinas, o sST2 não é afetado por fatores como idade, índice de massa corporal ou função renal (GAGGIN; JANUZZI, 2013). Por não apresentar alterações em suas concentrações séricas nas situações de comprometimento da função renal, como ocorre com o NT-proBNP e cTnI, a avaliação do sST2 pode ser particularmente útil na previsão de desfechos em pacientes em IC descompensada e insuficiência renal (KIM et al., 2015).

Considerando ainda a variabilidade inter e intraindividual em humanos, embora o NT-proBNP possua melhor valor diagnóstico para ICC, o sST2 parece deter maior poder prognóstico e preditivo (WU; WIAN; JAFFE, 2013).

Embora a relevância clínica do sST2 tenha sido comprovada em pacientes humanos e seu uso indicado na rotina de atendimento clínico cardiológico e em serviços de emergências, como um importante preditor de risco e prognóstico, este biomarcador, ainda foi pouco avaliado em cães. Portanto, a proposta deste estudo foi determinar a utilidade do sST2, avaliado em comparação a outros biomarcadores, como o peptídeo natriurético N-terminal tipo B (NT-proBNP) e a troponina cardíaca I (cTnI), para a avaliação de cães predispostos ou em diferentes estágios da DVCM.

3 HIPÓTESE

A hipótese deste estudo é que as concentrações séricas de sST2 são maiores na presença de IC secundária a degeneração valvar crônica de mitral (DVCM) e crescentes, conforme os estágios da progressão da DVCM e associados ao prognóstico, avaliado pela ocorrência de óbito durante o período de acompanhamento.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Determinar se as concentrações séricas de sST2 adicionam informações importantes à avaliação cardiológica, relacionadas ao diagnóstico e prognóstico, de cães em diferentes estágios da DVCM.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Estabelecer valores de referências das concentrações de sST2 para a população estudada.
- 2) Determinar se o sST2 apresenta variabilidade relacionada ao gênero ou idade, em cães saudáveis.
- 3) Avaliar se cães com ICC secundária a DVCM apresentam valores aumentados de sST2 em relação aos cães sem ICC.
- 4) Avaliar se as concentrações séricas de sST2 apresentam-se distintas entre os estágios da DVCM e maiores conforme a progressão da doença.
- 5) Correlacionar os níveis séricos de sST2 com variáveis ecocardiográficas e com valores dos biomarcadores cardíacos NT-proBNP e troponina I.
- 6) Estimar a utilidade do sST2 para a avaliação de prognóstico nos cães com DVCM.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, mediante aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, FMVZ-USP (Protocolo 2543/2012) e após prévia autorização dos responsáveis dos cães incluídos na pesquisa (APÊNDICE I).

5.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

A pesquisa foi realizada em população de cães selecionados da rotina do serviço de Cardiologia do Departamento de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Brasil.

Foram selecionados cães de pequeno e médio porte, com peso inferior a 20 kg e idade superior a cinco anos, que não portavam comorbidades graves como doença renal ou hepática, endocrinopatias ou neoplasias. Para o grupo controle, selecionou-se cães que, embora apresentassem predisposição ao desenvolvimento da DVCM, no momento da seleção, não possuíam alteração cardíaca estrutural identificável, sendo classificados em estágio “A”, segundo estadiamento proposto por cardiologistas do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (*American College of Veterinary Internal Medicine - ACVIM*) (ATKINS et al., 2009). Os cães acometidos pela DVCM, em diferentes estágios da doença, podiam ou não apresentar insuficiência tricúspide associada.

5.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO, AMOSTRAGEM E ESTADIAMENTO DOS PACIENTES

Foi conduzido um estudo clínico observacional transversal prospectivo, com um braço longitudinal por meio de uma nova avaliação e coleta de amostras dos animais com DVCM após 60 dias, para dosagens dos biomarcadores.

O cálculo amostral foi feito com base em outro biomarcador avaliado concomitantemente (Galectina-3), em um estudo paralelo realizado na mesma população. Entretanto, o tamanho amostral da população selecionada foi também avaliado para o sST2, utilizando-se os resultados obtidos por Januzzi et al. (2007), que constatou a diferença mediana de 35 pg/mL nas concentrações de sST2 entre pacientes humanos manifestando dispneia relacionada ou não à ICC. Considerando-se esta diferença esperada, com o poder do teste ajustado em 0,8 e nível de significância de 0,05, determinou-se que cada grupo deveria possuir pelo menos seis cães. O dimensionamento amostral foi executado por meio de software estatístico¹.

A amostra foi composta por 139 cães, avaliados no período de outubro de 2013 a julho de 2015. Os animais foram divididos em cinco grupos (A, B1, B2, C e D) de acordo com as diretrizes atuais de estadiamento para DVCM em cães (ATKINS et al., 2009), conforme quadro 1.

¹ Software SigmaStat®, versão Windows, versão 3.5.1, Chicago, IL, USA)

Quadro 1 - Classificação da DVCM segundo o Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (American College of Veterinary Internal Medicine - ACVIM)

Estágio	Classificação
A	Animais com predisposição, mas sem alteração cardíaca estrutural identificável.
B1	Animais sem manifestações clínicas. Animais com alteração estrutural de doença cardíaca (presença de sopro cardíaco de valva mitral), sem evidências radiográficas e/ou ecocardiográficas de remodelamento cardíaco.
B2	Animais sem manifestações clínicas. Animais com alteração estrutural de doença cardíaca (presença de sopro cardíaco de valva mitral), com evidências radiográficas e/ou ecocardiográficas de remodelamento cardíaco.
C	Animais com manifestações clínicas de insuficiência cardíaca associada à doença estrutural de doença cardíaca e submetidos à terapia medicamentosa.
D	Doença cardíaca presente com sinais de insuficiência cardíaca avançada. Manifestações clínicas manifestadas em repouso. Animais refratários à terapia padrão. Necessária hospitalização e tratamento intensivo.

Fonte: (ATKINS et al., 2009). *Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease.*

Inicialmente, 165 cães foram triados, no entanto, após exames de imagem, 14 cães foram excluídos. Dos 151 animais selecionados, outras 12 perdas ocorreram devido ao não comparecimento no retorno após 60 dias, para nova avaliação e coleta de amostras, restando 139 cães.

O número de cães inicialmente triados, animais excluídos do estudo após exames de imagem, motivos das exclusões, número de cães selecionados e a distribuição entre os grupos, de acordo com o estadiamento da DVCM, estão apresentados no fluxograma a seguir (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma dos cães participantes do estudo e distribuição amostral entre grupos, de acordo com os estágios da DVCM

Nota: Grupo controle A: cães saudáveis predispostos a degeneração valvar crônica de mitral (DVCM); Grupo B1: cães com DVCM e sem remodelamento cardíaco; Grupo B2: cães com DVCM e remodelamento cardíaco, mas sem manifestações clínicas de insuficiência cardíaca congestiva (ICC); Grupo C: cães com DVCM e manifestações clínicas de ICC; Grupo D: cães com DVCM e manifestações clínicas de ICC refratários ao tratamento; RX: exame radiográfico; VE: ventrículo esquerdo; insuf. tricúspide: insuficiência valvar crônica de tricúspide isolada, sem DVCM; persist. ducto arterioso: persistência do ducto arterioso.

Entre o primeiro dia de coleta (dia 0) e o segundo (dia 60), ocorreram 12 perdas devido à descontinuidade no acompanhamento. Sete cães não retornaram por indisponibilidade de data ou insucesso no contato telefônico com o responsável, dois cães foram excluídos por jejum inadequado resultando em amostras lipêmicas repetidamente, um por óbito do responsável, um por desautorização da coleta de sangue e um pela confirmação tardia de comorbidade. Os cães que não compareceram para a segunda coleta (considerados como "perda"), não possuíam valores no segundo momento da avaliação, portanto foram excluídos da análise.

Para algumas análises estatísticas, os cães com DVCM foram agrupados quanto a ausência de insuficiência cardíaca congestiva (ICC) (estágios B1 e B2) ou presença de ICC (estágios C e D). Foram consideradas manifestações clínicas, exame radiográfico de tórax (aumento atrial esquerdo com congestão venosa pulmonar ou infiltrados compatíveis com edema pulmonar cardiogênico) e avaliação ecodopplercardiográfica, pelos índices que representam elevada pressão de enchimento ventricular (velocidade máxima da onda E, E/TRIV e E/Em_{par}) para a determinação de ICC (SCHOBER et al., 2010). A distribuição amostral de acordo com a presença ou ausência de ICC está apresentada no fluxograma a seguir (Figura 2).

Figura 2 - Fluxograma dos cães com DVCM e distribuição amostral entre grupos, de acordo com a ausência ou presença de insuficiência cardíaca congestiva (ICC)

Nota: DVCM: degeneração valvar crônica de mitral; ICC: insuficiência cardíaca congestiva; grupo B1: cães com DVCM e sem remodelamento cardíaco; grupo B2: cães com DVCM e remodelamento cardíaco, porém sem ICC; Grupo C: cães com DVCM e manifestações de ICC; Grupo D: cães com DVCM e manifestações de ICC refratários ao tratamento.

5.3 EXAME FÍSICO

Os animais selecionados foram submetidos à anamnese e exame físico detalhados de acordo com Feitosa (2004).

Durante a anamnese, o responsável foi questionado se manifestações clínicas como tosse, cansaço fácil, dispneia, intolerância a exercícios, cianose de mucosas, apatia, sonolência, síncope, ascite ou edema de membros já haviam sido notadas. Informações sobre o apetite, ingestão hídrica, ocorrência de êmese ou diarreia, aspecto das fezes e urina e existência de fatores de risco para dirofilariose, também foram interrogadas.

Ao exame físico foram aferidos os parâmetros vitais (frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal), realizada a inspeção quanto à coloração das mucosas e à presença ou não de secreções. O grau de hidratação foi avaliado pela elasticidade cutânea e tempo de preenchimento capilar. Os linfonodos mandibulares, cervicais superficiais e poplíteos foram palpados e avaliados quanto ao tamanho, consistência, temperatura e regularidade da superfície. O exame do tórax foi realizado por meio de inspeção, palpação, percussão dígito-digital e auscultação cardiopulmonar indireta. A cavidade abdominal foi inspecionada por palpação e percussão. O pulso arterial femoral foi examinado quanto às características relativas (frequência e ritmo) e absolutas (normo, hipo ou hipercinético). A ficha clínica encontra-se detalhada no anexo B.

5.4 EXAMES CARDIOLÓGICOS COMPLEMENTARES

Após avaliação inicial, os cães foram submetidos a aferição de pressão arterial sistêmica, eletrocardiografia, exame radiográfico de tórax e exame ecodopplercardiográfico.

5.4.1 Pressão arterial sistólica

Para a mensuração da pressão arterial sistólica (PAS), utilizou-se o procedimento indicado nas diretrizes do consenso do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (ACVIM) (BROWN et al., 2007), de acordo com a descrição a seguir.

Após a realização do exame físico, os animais foram posicionados em decúbito lateral direito e submetidos à aferição da PAS pelo método Doppler não invasivo com a utilização de aparelho Doppler vascular² e manguitos neonatais da marca Dixtal®. A escolha do manguito apropriado foi feita com base na medida de 40% da circunferência do membro torácico esquerdo, ao terço médio da região radioulnar.

O pulso foi localizado com transdutor posicionado sobre a artéria palmar entre os coxins carpianos e metacarpianos com auxílio de gel condutor. Após a estabilização das medidas, foram realizadas cinco mensurações da PAS em intervalos de 30 segundos e calculada a média.

5.4.2 Eletrocardiografia

Os exames eletrocardiográficos foram realizados em equipamento com registro em papel termossensível³. Os cães foram posicionados em decúbito lateral direito com o registro das derivações unipolares (DI, DII, DIII), bipolares aumentadas (aVR, aVL, aVF) e pré-cordiais (CV5RL, CV6LL, CV6LU e V10) (TILLEY; GOODWIN, 2001).

² Doppler vascular modelo 811B - Parks Medical Electronics®, Aloha, Oregon, USA.

³ Eletrocardiógrafo modelo ECG-6 - Ecafix®, São Paulo, SP, Brasil.

5.4.3 Ecodopplercardiografia

Para a realização do exame ecocardiográfico os animais foram posicionados em decúbito lateral por meio de contenção manual, sem sedação ou anestesia, conforme recomendações do Comitê Ecocardiográfico do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (*Echocardiography Committee of the Speciality of Cardiology – ACVIM*) (THOMAS et al., 1993) e da Sociedade Americana de Ecocardiografia (*American Society of Echocardiography*), com modificações sugeridas por Boon (2011) e Chetboul (2002), utilizando-se o equipamento⁴ nos modos bidimensional, M, Doppler (pulsado, contínuo e colorido) e Doppler tecidual, com registro simultâneo do ECG. O exame ecodopplercardiográfico transtorácico foi realizado por dois operadores experientes⁵.

Realizou-se a mensuração dos diâmetros internos do VE, diastólico final (DIVEd) e sistólico final (DIVEs), além das mensurações das frações de ejeção (FE) e de encurtamento (FS) com o método de Teichholz, pelo modo M, no corte transversal ao nível dos músculos papilares, na janela paraesternal direita transversal. Ainda nesta janela, ao nível da base cardíaca, avaliaram-se as dimensões do átrio esquerdo (AE) e da aorta (Ao), para posteriormente determinar-se a relação AE/Ao (HANSSON et al., 2002). Considerou-se o valor normal para a relação AE/Ao igual ou inferior a 1,5 ($AE/Ao \leq 1,5$), no corte transversal da base cardíaca, na janela paraesternal cranial direita, conforme proposto na literatura (WESSELOWSKI et al., 2014). Dessa forma, cães sem remodelamento atrial esquerdo (estágios B1) apresentaram relação $AE/Ao \leq 1,5$ e pacientes com remodelamento (estágios B2, C e D) apresentaram relações $AE/Ao > 1,5$.

As mudanças percentuais dos diâmetros internos do VE, diastólico e sistólico (%DIVEd e %DIVEs), foram determinados pela fórmula: $100 \times (\text{diâmetro observado} - \text{diâmetro esperado}) / \text{diâmetro esperado}$. Os valores dos diâmetros esperados foram calculados pelo seguinte método: diâmetro diastólico do VE

⁴ Equipamento de Ecodopplercardiograma modelo Vivid i, *General Electric Company*®, USA.

⁵ Lilian Caran Petrus e Matheus Mاتيoli Mantovani.

esperado = $1,53 \times (\text{peso corpóreo})^{0,294}$; diâmetro sistólico do VE esperado = $0,95 \times (\text{peso corpóreo})^{0,315}$ (CORNELL et al., 2004).

Avaliou-se a função diastólica do VE com base nos padrões do fluxo transmitral, nos modos Doppler pulsado convencional e Doppler tecidual, utilizando-se as relações E/A e E/Em_{par}, tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e relação E/TRIV, parâmetros avaliados no corte apical quatro câmaras (SCHOBER et al., 2010). Neste mesmo corte, avaliou-se o jato regurgitante mitral, utilizando-se o Doppler contínuo, com o feixe de ultrassom alinhado de forma paralela ao jato, para a determinação subjetiva da magnitude da regurgitação.

As ondas de velocidades Em_{par} (enchimento ventricular inicial) e Am_{par} (enchimento ventricular tardio) derivadas da movimentação miocárdica foram adquiridas pelo Doppler tecidual pulsado, por meio do corte apical quatro câmaras, com o volume de amostra posicionando na parede livre do VE próximo ao anel mitral (parietal). As relações entre os picos de velocidades das ondas E do fluxo transmitral e Em_{par} tecidual (E/Em_{par}) foram calculadas (CHETBOUL, 2002; SCHOBER et al., 2010).

Os exames ecodopplercardiográficos foram gravados para posterior análise. Todas as medidas foram feitas por um pesquisador treinado⁶ sem acesso às informações sobre a identificação dos cães, manifestações clínicas, radiografias torácicas e estado hemodinâmico do paciente avaliado. A fim de maior precisão, todas as variáveis ecodopplercardiográficas foram mensuradas três vezes, utilizando-se o valor médio resultante.

5.4.4 Radiografia torácica

Para avaliar a silhueta cardíaca e os campos pulmonares, os cães foram submetidos a exames radiográficos do tórax nas projeções laterolaterais direita e esquerda e ventrodorsal, determinando-se também o valor do *Vertebral Heart Size* (VHS) na projeção laterolateral direita (BUCHANAN; BÜCHELER, 1995).

⁶ Matheus Matioli Mantovani.

A avaliação radiográfica do tórax foi importante para a determinação da presença de ICC nos pacientes, considerando-se o aumento atrial esquerdo associado a congestão venosa pulmonar ou infiltrados pulmonares compatíveis com edema pulmonar cardiogênico, de acordo com critérios utilizados em estudo (SCHOBER et al., 2010), juntamente avaliação por meio de auscultação pulmonar e variáveis ecodopplercardiográficas.

Foram utilizados dois equipamentos radiológicos⁷, ambos com mesa radiológica com grade antidifusora. Os exames radiográficos foram realizados pelo Serviço de Diagnóstico por Imagem do Departamento de Cirurgia, HOVET-FMVZ/USP.

5.5 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Foram coletados 10 mL de sangue por meio de venopunção de jugular para mensuração dos biomarcadores cardíacos e exames laboratoriais (hemograma, contagem de plaquetas, dosagem sérica de creatinina, ureia, proteínas totais, albumina, enzima alaninoaminotransferase, gamaglutamil transferase, fosfatase alcalina, sódio, potássio, cálcio e fósforo) de todos os animais selecionados. No momento da coleta, o sangue remanescente na agulha foi utilizado para a dosagem glicêmica aferida por meio de glicosímetro portátil⁸.

As amostras destinadas às mensurações de biomarcadores foram refrigeradas imediatamente após a obtenção, centrifugadas sob refrigeração a 4°C, separadas em alíquotas e armazenadas a -80°C até o processamento, de forma que todos os marcadores foram dosados em amostras ao primeiro degelo. Amostras hemolisadas e lipêmicas foram descartadas e coletadas novamente sob condições adequadas.

Todas as amostras foram sequencialmente numeradas conforme inclusão no projeto e blindadas quanto à identificação dos pacientes. Foram realizados testes ELISA do tipo SNAP, adquiridos do laboratório IDEXX, para *Dirofilaria*

⁷ RAY-TEC®, modelo RT 500/125, com 500mA e 125kV e Tecno Designer®, alta frequência, TD 500 HF.

⁸ Glicosímetro Accu-Chek Advantage - Roche Diagnostics®, Mannheim, Germany.

immitis, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* e *Borrelia burgdorferi*⁹.

Os hemogramas e as provas bioquímicas foram realizados em equipamentos automatizados¹⁰, conforme rotina do Serviço de Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica, no Hospital Veterinário da FMVZ-USP. O hematócrito foi determinado por meio de tubos microcapilares e a contagem diferencial dos leucócitos foi realizada por microscopia óptica do esfregaço sanguíneo. Foram ainda realizados exames de perfil renal (ureia e creatinina), perfil hepático (proteínas totais, albumina, enzima alaninoaminotransferase, gamaglutamil transferase e fosfatase alcalina) e dosagem de eletrólitos de todos os cães.

5.6 DOSAGENS DOS BIOMARCADORES

Foram realizadas dosagens dos biomarcadores sST2, NT-proBNP e troponina I (cTnI).

5.6.1 Dosagens do sST2

Para a determinação das concentrações de sST2 foram utilizados kits comerciais ELISA canino IL-1Srl, receptor de interleucina-I¹¹. Foram processados quatro kits, totalizando 227 amostras em duplicatas, com dosagens pertencentes aos dias zero e 60, não sequenciais. Em razão da baixa homologia apresentada com a espécie canina (cerca de 72%) optou-se por não dosar o sST2 com kits

⁹ Snap 4Dx plus test - IDEXX Laboratories®, Sacramento, California, USA.

¹⁰ ABC VET - HORIBA ABX® e LABMAX®.

¹¹ Kit ELISA - IL-1Srl canine - ref. BG-CAN11421, Novatein Biosciences, Cambridge, USA.

humanos, utilizando apenas o específico para a espécie canina. As dosagens de sST2 foram realizadas no laboratório IgAc¹² (Figura 3).

Figura 3 - Processamento das amostras para a dosagem de sST2, no Laboratório IgAc (A); lavadora de microplacas para testes ELISA (B).

Para a validação dos kits, foram dosadas concentrações de sST2 provenientes de três cães, sendo um do grupo controle (grupo A), um com DVCM em estágio intermediário (grupo B2) e um em estágio avançado da doença (grupo D). As amostras foram analisadas em duplicata e processadas em três ensaios realizados em dias diferentes, totalizando seis replicatas por paciente. Os coeficientes de variação intraensaio (repetibilidade) e interensaio (reprodutibilidade) estão apresentados no quadro 2.

Os controles selecionados apresentaram concentrações séricas médias, entre as três dosagens, de 59,14 pg/mL (animal A), 65,23 pg/mL (animal B2) e 71,29 pg/mL (animal D).

¹² IgAc® Instituto Gênese de Análise científicas - R. Borges Lagoa, 1231, conj. 32-33 - VI. Clementino, São Paulo / SP, Brasil.

Quadro 2 - Coeficientes de variação intraensaio (repetibilidade) e coeficientes interensaio (reprodutibilidade) para validação do Kit ELISA canino IL-1Srl (BG-CAN11421, Cambridge, USA)

Validação do kit sST2 Canino						
Placa 1						
sST2 (pg/mL)	Animal A		Animal B2		Animal D	
	Poço 1	Poço 2	Poço 1	Poço 2	Poço 1	Poço 2
	68,85	65,15	82,49	75,93	86,13	79,52
	Média - placa 1		79,21		82,82	
	DP		4,63		4,67	
	CV (%)		5,9		5,6	
Placa 2						
sST2 (pg/mL)	Animal A		Animal B2		Animal D	
	Poço 1	Poço 2	Poço 1	Poço 2	Poço 1	Poço 2
	52,50	60,84	69,69	59,03	63,28	66,05
	Média - placa 2		59,86		64,66	
	DP		1,17		1,96	
	CV (%)		2		3	
Placa 3						
sST2 (pg/mL)	Animal A		Animal B2		Animal D	
	Poço 1	Poço 2	Poço 1	Poço 2	Poço 1	Poço 2
	46,22	61,26	57,41	55,83	64,34	68,45
	Média - placa 3		56,62		66,40	
	DP		1,11		2,90	
	CV (%)		2		4,4	
Coeficientes de Variação Intraensaio e Interensaio						
Média entre placas	59,14		65,23		71,29	
CV médio Intra (%)	11,36		3,26		4,34	
CV médio Inter (%)	11,78		18,72		14,05	

O processo de validação dos kits encontra-se em conformidade com o nível de aceitação da comunidade científica, que preconiza que os coeficientes de variação de ensaios laboratoriais devem apresentar-se abaixo de 15% (BANSAL; DESTEFANO, 2007; GEDDES et al., 2013). Apenas o coeficiente de variação interensaio (CV-inter) da amostra intermediária (animal B2) apresentou valor acima de 15% (Quadro 1), o que não invalida o desempenho do kit, pois são aceitos para utilização clínica kits comerciais com CV Inter de até 20% (FERREIRA, 2012).

5.6.2 Dosagens do NT-proBNP

A fim de evitar a degradação *in vitro*, as amostras de plasma para dosagens de NT-proBNP foram armazenadas em tubos especiais contendo antiproteínase, fornecidos pelo laboratório IDEXX¹³, sendo armazenadas a -80°C até o processamento. As amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo seco e enviadas, conforme os critérios de sanidade para o transporte de amostras biológicas ao exterior.

A dosagem da concentração plasmática do NT-proBNP foi determinada pelo kit Cardiopet®, um kit específico canino do laboratório IDEXX, previamente validado para o uso em cães. A faixa de referência utilizada foi a preconizada pelo laboratório que estabeleceu os seguintes intervalos para a espécie canina conforme a presença de ICC: <900 pmol/L: cães sem ICC; 900-1800 pmol/L: suspeitos de ICC e >1800 pmol/L: cães com ICC.

5.6.3 Dosagens de Troponina I

Devido à homologia da troponina I (cTnI) entre os mamíferos é possível determinar sua concentração em cães utilizando ensaios desenvolvidos para humanos (REYNOLDS; OYAMA, 2008). Desta forma, a cTnI foi avaliada por meio de analisador clínico portátil automático humano, sistema i-STAT-1¹⁴, com cartucho específico¹⁵, a partir de amostra de soro, conforme instruções do fabricante (Figura 4).

¹³ IDEXX Laboratories INC. Sacramento, Califórnia, USA.

¹⁴ i-STAT - Handheld Clinical Analyzer® - Abbott Laboratories. Abbott Park, Illinois, USA.

¹⁵ i-STAT - Cardiac troponin I (cTnI) test - Abbott Laboratories. Abbott Park, Illinois, USA.

Figura 4 - Analisador clínico portátil automático, sistema i-STAT® (A) e cartucho para dosagem de troponina I (cTnI) (B).

5.7 AVALIAÇÃO DA PROGRESSÃO CLÍNICA E SOBREVIDA

A evolução clínica de cada cão foi verificada 60 dias após inclusão do paciente no estudo. Nesse momento foram realizados os exames clínico (item 5.2) e ecodopplercardiográfico (item 5.3.2), aferição da PAS (item 5.3.1), mensuração dos biomarcadores sST2, NT-proBNP e cTnI, como descrito no item 5.5.

Em um segundo momento após a finalização do estudo, o desfecho clínico de cada cão foi verificado por meio de entrevista telefônica com o responsável. As entrevistas foram realizadas por alunas treinadas do último ano de graduação¹⁶, e os resultados foram registrados em um questionário em formato eletrônico.

O questionário foi composto de perguntas com um número definido de possíveis respostas, mais comumente "sim" ou "não" (Anexo C). O responsável foi

¹⁶ Bruna Bianchini Real e Letícia Freitas Beccari

inquirido se o cão estava vivo ou morto, e em caso de óbito, foi questionado de forma detalhada se o animal foi eutanasiado ou apresentou morte natural.

Na ocorrência de morte natural, as possíveis causas, incluindo a morte súbita relacionada à causa cardíaca, episódios de síncope, ou progressão da IC foram investigadas. Considerou-se morte relacionada à causa cardíaca quando decorrente da progressão das manifestações clínicas de ICC. Os cães eutanasiados devido a refratariedade ao tratamento da ICC, também foram considerados óbitos por desfecho primário. Desta forma, foram considerados desfechos primários morte ou eutanásia em função de causa cardíaca.

Neste estudo, morte súbita foi definida como morte durante o sono ou atividade (correr e brincar), ou no intervalo de duas horas após o paciente demonstrar manifestações súbitas de IC (como por exemplo, dispneia aguda), excluindo-se outras possíveis causas não cardíacas relacionadas ao evento. A análise de sobrevida foi realizada considerando-se todas as causas de morte, cardíacas ou não, sendo censuradas as causas não cardíacas. A avaliação da progressão clínica e sobrevida foi realizada com base no estudo realizado por Borgarelli *et al.* (2008).

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Realizou-se análise estatística descritiva com medidas de posição e dispersão, de acordo com o estágio da DVCM. Foram determinadas frequências para variáveis categóricas, mediana, moda e percentis 25 ($P_{25\%}$) e 75 ($P_{75\%}$) para variáveis contínuas.

Todas as variáveis foram submetidas ao teste de Shapiro-Wilk e análise dos histogramas para verificar se apresentavam distribuição paramétrica. Para variáveis não paramétricas, comparações entre três ou mais grupos foram feitas pelo teste de Kruskal-Wallis, utilizando-se pós teste de Dunn, enquanto que, comparações entre dois grupos foram analisadas pelo teste de Mann-Whitney ou Wilcoxon, para amostras não pareadas ou pareadas, respectivamente. A comparação entre três ou mais variáveis paramétricas foi realizada com ANOVA,

seguida de pós teste de Bonferroni, ou com teste t para comparação entre dois grupos. Determinaram-se correlações lineares entre as concentrações dos biomarcadores e variáveis ecocardiográficas por meio do coeficiente de Spearman ($p < 0,05$). A magnitude da correlação foi classificada como ínfima ($r < 0,1$), fraca ($0,1 \leq r < 0,5$), moderada ($0,5 \leq r < 0,8$), forte ($0,8 \leq r < 1,0$) e muito forte ($0,90 \leq r < 1,00$) (SANTOS, 2007). Confeccionou-se curvas ROC (*receiver operating characteristic*) a fim de determinar valores de corte dos biomarcadores avaliados para a predição de ICC em cães com DVCM. A análise de sobrevivência foi realizada com curvas de Kaplan-Meier e teste de Log-rank (Mantel-Cox) ($p < 0,05$). Para a avaliação de desempenho dos biomarcadores, como testes diagnósticos e avaliação de prognóstico, utilizou-se teste qui quadrado, seguido de determinação de probabilidade pré-teste, sensibilidade, especificidade, valores preditivos (positivo e negativo), razões de verossimilhança (positiva e negativa), chance pré-teste, chance pós-teste, probabilidade pós-teste, acréscimo na capacidade de diagnóstico e acurácia. Foi utilizado *software* específico para as análises estatísticas¹⁷.

¹⁷ *Software GraphPad Prism®*, versão 5.0 para Windows, San Diego, California, USA.

6 RESULTADOS

Dos 165 cães inicialmente recrutados, 14 animais foram excluídos, principalmente devido a presença de comorbidades, permanecendo 151 cães. Outros 12 cães não retornaram para a segunda avaliação e coleta, restando 139 animais que concluíram o estudo.

6.1 DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS

Os dados demográficos, além dos resultados dos achados do histórico, exame físico, aferição da pressão arterial, medidas de VHS e ECG dos cães encontram-se descritos na tabela 1.

Tabela 1 -Dados demográficos e resultados dos achados do histórico, exame físico, aferição da pressão arterial, VHS e ECG realizados em 139 cães distribuídos conforme o estágio da doença valvar crônica de mitral.

	Grupo A (n=60)	Grupo B1 (n=28)	Grupo B2 (n=20)	Grupo C (n=20)	Grupo D (n=11)
N° de diferentes raças	16	11	7	8	6
Raças predominantes	SRD (46,7%); Poodle (10%); Lhasa apso e Yorkshire (8,3%); Dachshund (5%)	Poodle (25%); SRD (14,3%); Yorkshire Pinscher e Shih Tzu (10,7%); Lhasa apso e Maltês (7,1%)	Poodle (50%); SRD (25%); Dachshund, Lulu da Pomerania, Terrier brasileiro, Maltês e Pinscher (5%)	Poodle (35%); SRD (30%); Shih Tzu (10%); Dachshund, Lhasa apso, Pequinês e Whippet (5%)	Dachshund (27,3%); Maltes, Poodle e SRD (18,2%); Terrier brasileiro e Shih Tzu (9,1%)
Idade (anos)	6 ^a (5,2-8)	10 ^b (9-11,0)	11 ^b (8-13)	11,5 ^b (10-12,7)	12 ^b (11-14)
Peso (kg)	8,8 (5,0-13,4)	6,6 (4,2-10,6)	6,0 (4,0-8,6)	6,6 (4,0-9,2)	5,4 (3,9-10,3)
Sexo (F:M)	38:22	14:14	8:12	5:15	1:10
FC (bpm)	130 ^{ab} (±26)	123 ^a (±22)	133 ^{abc} (±21)	147 ^{bc} (±16)	153 ^c (±29)
FR (mpm)	28 ^a (24-41)	32 ^{ab} (25-40)	40 ^b (32-70)	45 ^b (35-65)	36 ^{ab} (31-47)
Intolerância ao exercício (%)	5 (3/60)	17,8 (5/28)	50 (10/20)	65 (13/20)	63,6 (7/11)
Tosse (%)	11,6 (7/60)	21,42 (6/28)	60 (12/20)	85 (17/20)	72,7 (8/11)
Taquipneia ou dispneia (%)	3,3 (2/60)	10,7 (3/28)	0 (0/20)	40 (8/20)	63,6 (7/11)
Sopro sistólico, foco mitral (%)	10 (6/60)	75 (21/28)	100 (20/20)	100 (20/20)	100 (11/11)
Intensidade do sopro* (0-VI/VI)	0 (0-III)	III (I-IV)	IV (II-IV)	IV (III-V)	V (IV-VI)
Pressão arterial sistólica (mmHg)	144 ^a (±25)	147 ^a (±20)	137 ^{ab} (±26)	120 ^b (±20)	122 ^b (±22)
VHS (vértebras)	9,8 ^a (9,5-10,3)	10,2 ^{ab} (9,5-10,5)	10,9 ^{bc} (10,1-11,2)	11,9 ^c (11,5-12,9)	12,2 ^c (11,5-13)
Ritmo predominante ao ECG*	RS (31/60)	RS (17/28)	RS (13/20)	RS (16/20)	RS (6/11)

Medianas (P_{25-75%}) para dados de distribuição não paramétrica, médias (±DP) para dados de distribuição paramétrica e número (n) ou porcentagem (%) para os dados de frequência. Letras sobrescritas distintas na mesma linha se diferem pelo Teste de Dunn para variáveis não paramétricas ou Teste de Bonferroni para paramétricas (P<0,05). SRD: sem raça definida; *moda; RS: Ritmo sinusal.

Observou-se que os cães do grupo A possuíam idade mediana significativamente inferior, comparados aos demais ($P<0,0001$).

As frequências respiratória (FR) e cardíaca (FC) diferiram entre os grupos avaliados. A FR foi maior nos estágios B2 e C em relação ao grupo controle ($P=0,0006$), entretanto o grupo D não demonstrou diferenças em relação aos demais grupos. Os valores de FC do grupo D foram significativamente maiores em comparação aos observados nos grupos A e B1 ($P=0,0008$), embora não tenham sido diferentes dos grupos B2 e C (Tabela 1).

Os cães dos grupos C e D apresentaram valores de pressão arterial sistólica (PAS) menores em comparação aos grupos A e B1 ($P<0,0001$), enquanto os animais do grupo B2 demonstraram valores intermediários, não diferindo dos demais grupos estudados (Tabela 1).

As medidas de VHS foram progressivamente maiores conforme os estágios da DVCM, com os animais dos grupos C e D demonstrando valores aumentados em relação aos grupos A e B1 ($P<0,0001$) (Tabela 1).

Manifestações clínicas relacionadas à ICC, como intolerância a exercícios, tosse e taquipneia ou dispneia, foram mais frequentes nos estágios mais avançados da DVCM (grupos C e D). Da mesma forma, a intensidade do sopro, identificado à auscultação cardíaca, foi progressivamente maior de acordo com a evolução da doença, com a maioria dos cães do grupo D apresentando sopro de grau V/VI (Tabela 1).

Os parâmetros FC, FR, PAS e VHS também foram analisados de acordo com a presença ou ausência de ICC, nos animais com DVCM, excluindo-se os cães do grupo controle. Observou-se que o grupo de cães com ICC apresentou mediana da FC aumentada (150 bpm, $P_{25-75}=132-160$), em relação ao grupo sem ICC (132 bpm, $P_{25-75}=106-140$) (Figura 5A). Da mesma forma, os valores medianos de FR foram maiores no grupo com ICC (40 mpm, $P_{25-75}=32-54$), comparados ao grupo sem ICC (33 mpm, $P_{25-75}=28-40$) (Figura 5B).

Os valores médios de pressão arterial sistólica (PAS) foram maiores no grupo sem ICC (143 mmHg $\pm$ 22,73) do que nos cães com ICC (120,5 mmHg $\pm$ 20,52) (Figura 5C), enquanto que as medianas do VHS apresentaram-se menores no grupo sem ICC (10,2 vértebras, $P_{25-75}=9,8-10,8$) em relação ao grupo com ICC (12 vértebras, $P_{25-75}=11,5-13$) (Figura 5D).

Figura 5 - Representações box-plot (mediana; P25, P75; mínimo e máximo) dos valores de frequência cardíaca (A), frequência respiratória (B) pressão arterial sistólica (C) e VHS (D), de 79 cães com DVCM.

Nota: Para análise utilizou-se teste Mann Whitney (FC, FR e VHS) ou teste t não pareado (PAS) ($p<0,05$). Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015)- São Paulo - 2016

6.2 VARIÁVEIS ECODOPPLERCARDIOGRÁFICAS

As variáveis ecodopplercardiográficas avaliadas nos dias 0 e 60 encontram-se respectivamente nas tabelas 2 e 3. Os cães não foram reagrupados ao segundo momento de avaliação, mesmo aqueles que apresentaram evolução de estágio da DVCM durante este período. Portanto, a análise estatística do dia 60 foi realizada respeitando-se a composição original de cada grupo estudado.

Tabela 2 - Valores medianos e percentis ($P_{25\%-75\%}$) das variáveis ecocardiográficas avaliadas em 60 cães hígidos (grupo A) e 79 cães em diferentes estágios da DVCM (B1, B2, C e D), ao primeiro momento de avaliação (dia 0).

Variável	Grupo A (n=60)	Grupo B1 (n=28)	Grupo B2 (n=20)	Grupo C (n=20)	Grupo D (n=11)	P
AE/Ao	1,18 (1,10–1,32) ^a	1,27 (1,19–1,34) ^a	1,83 (1,61–2,10) ^b	2,31 (2,11–2,97) ^b	2,38 (1,81–2,75) ^b	<0,0001
DIVEd (mm)	25,29 (21,76–31,32) ^a	24,31 (20,31–29,41) ^a	28,28 (24,73–35,97) ^{ab}	35,08 (31,62–44,44) ^b	36,21 (27,54–42,59) ^b	<0,0001
%DIVEd	-6,95 (-14,72– -0,63) ^a	-5,91 (-13,16– -0,02) ^a	18,08 (2,33–27,42) ^b	43,32 (27,02–61,30) ^b	38,25 (20,64–59,11) ^b	<0,0001
DIVEs (mm)	14,74 (11,56–19,67) ^a	13,99 (11,65–16,46) ^a	14,36 (10,96–19,43) ^{ab}	18,81 (14,88–23,99) ^b	21,34 (18,06–23,53) ^b	0,0012
%DIVEs	-19,16 (-29,90– -3,32) ^a	-16,58 (-25,26– -10,86) ^a	-7,33 (-27,14–7,05) ^{ab}	5,63 (-7,73–37,25) ^{bc}	25,0 (10,42–36,16) ^c	<0,0001
FE%	76 (69–83) ^a	75 (70–82) ^a	82 (78–90) ^b	81 (74–85) ^{ab}	77 (75–79) ^{ab}	0,0062
FS%	42 (37–49) ^a	43 (38–48) ^{ab}	48 (44–55) ^b	46 (41–53) ^{ab}	45 (42–47) ^{ab}	0,0067
Onda E (m/s)	0,72 (0,60–0,81) ^a	0,69 (0,54–0,77) ^a	0,97 (0,80–1,12) ^b	1,24 (1,10–1,47) ^b	1,24 (1,08–1,46) ^b	<0,0001
Onda A (m/s)	0,60 (0,51–0,69) ^a	0,61 (0,49–0,72) ^{ac}	0,84 (0,70–1,06) ^b	0,73 (0,57–0,83) ^{ab}	0,85 (0,61–0,93) ^{bc}	<0,0001
E/A	1,21 (1,07–1,41) ^{ab}	1,08 (0,88–1,34) ^a	1,15 (0,81–1,45) ^{ab}	1,66 (1,33–2,54) ^c	1,73 (1,39–2,02) ^{bc}	<0,0001
TRIV (ms)	61 (50–67) ^a	55 (46–67) ^a	50 (44–61) ^{ab}	41 (34–55) ^b	37 (30–44) ^b	<0,0001
E/TRIV	1,14 (1,04–1,44) ^a	1,18 (0,93–1,43) ^a	1,98 (1,58–2,42) ^b	2,92 (1,96–4,48) ^b	3,76 (3,46–4,42) ^b	<0,0001
Em _{par} (m/s)	0,10 (0,08–0,11)	0,09 (0,07–0,11)	0,11 (0,08–0,13)	0,11 (0,09–0,13)	0,10 (0,07–0,11)	0,2436
Am _{par} (m/s)	0,09 (0,08–0,11)	0,10 (0,09–0,13)	0,10 (0,09–0,12)	0,11 (0,09–0,12)	0,09 (0,07–0,14)	0,2578
Mitral E/Em _{par}	7,20 (5,81–9,23) ^a	7,77 (6,00–8,90) ^{ab}	9,46 (8,18–12,00) ^{bc}	12,34 (9,68–14,47) ^c	14,05 (11,64–17,99) ^c	<0,0001

Nota: AE/Ao, relação átrio esquerdo aorta; DIVEd, diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole; %DIVEd, mudança percentual do diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole; DIVEs, diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole; %DIVEs, mudança percentual do diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole; FE%, fração de ejeção; FS%, fração de encurtamento; Onda E, pico de velocidade de enchimento ventricular inicial; Onda A, pico de velocidade de enchimento ventricular tardio; TRIV, tempo de relaxamento isovolumétrico; Em_{par}, pico de velocidade diastólica inicial tecidual parietal; Am_{par}, pico de velocidade diastólica tardio tecidual parietal; letras sobrescritas distintas na mesma linha se diferem pelo Teste de Dunn ($P<0,005$).

As variáveis ecodopplercardiográficas AE/Ao, DIVEd e %DIVEd apresentaram diferenças entre os grupos avaliados, com valores crescentes de acordo com os estágios da DVCM. Os cães dos grupos C e D tiveram valores maiores destas variáveis, comparados aos grupos A e B1 (Tabela 2).

Medidas de DIVEs e %DIVEs também foram maiores nos estágios mais avançados da doença, nos grupos C e D, em relação aos grupos A e B1.

As frações de ejeção (FE) e de encurtamento (FS) foram maiores apenas no grupo B2 em comparação ao grupo A, não havendo diferenças entre os demais grupos.

Medidas de onda E, E/TRIV e E/Em_{par} foram progressivamente maiores conforme os estágios da DVCM, com valores aumentados nos grupos C e D em relação aos grupos A e B1. Já as medidas de TRIV foram menores nos estágios C e D, em comparação aos grupos A e B1 (Tabela 2).

6.3 BIOMARCADORES NO GRUPO CONTROLE

A mediana das concentrações séricas de sST2 canino dos cães do grupo A (controle) foi de 38,31 pg/mL ($P_{25}-P_{75}=30,02-48,62$). Como demonstrado anteriormente, a idade dos animais deste grupo foi menor, em comparação aos demais grupos ($P<0,0001$) (Tabela 1). Possíveis influências da idade e do gênero sobre as concentrações dos biomarcadores sST2, NT-proBNP e troponina I (cTnI) foram avaliadas no grupo controle, uma vez que não há estudos quanto a variabilidade do sST2 na espécie canina.

Não houve diferença nas concentrações de sST2 entre fêmeas (37,71 pg/mL, $P_{25}-P_{75}=29,46-49,69$) e machos (39,99 pg/mL, $P_{25}-P_{75}=29,78-50,54$) (Figura 6A), e entre cães com idade igual ou inferior a seis anos (42,24 pg/mL, $P_{25}-P_{75}=31,87-52,31$) em relação aos animais acima de 6 anos (36,65 pg/mL, $P_{25}-P_{75}=26,25-48,68$) (Figura 6B).

Figura 6 - Representações box-plot (mediana; P_{25} , P_{75} ; mínimo e máximo) das concentrações séricas de sST2 canino, relacionadas ao gênero (A) ou idade (B), de 60 cães pertencentes ao grupo A (controle).

Nota: Para análise utilizou-se teste t não pareado ($p < 0,05$). Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

As concentrações plasmáticas de NT-proBNP também não diferiram entre fêmeas (453 pmol/L, P_{25} - P_{75} =306-690) e machos (393 pmol/L, P_{25} - P_{75} =297-656) (Figura 7A), ou entre idade menor ou igual a 6 anos (430 pmol/L, P_{25} - P_{75} =268-583) e maior que 6 anos (458 pmol/L P_{25} - P_{75} =310-763) (Figura 7B).

Da mesma forma, os valores de cTnI não demonstraram diferenças entre fêmeas (0,03 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,02-0,05) e machos (0,02 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,01-0,04) (Figura 7C), entretanto, os cães até 6 anos de idade apresentaram concentrações significativamente menores (0,02 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,01-0,03), comparadas aos cães com idade acima de 6 anos (0,03 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,02-0,05) (Figura 7D).

Figura 7 - Representações box-plot (mediana; P_{25} , P_{75} ; mínimo e máximo) das concentrações plasmáticas de NT-proBNP, relacionadas ao gênero (A) e idade (B) e concentrações séricas de troponina I (cTnI), relacionadas ao gênero (C) e idade (D), de 60 cães pertencentes ao grupo A.

Nota: Para análise utilizou-se teste de Mann Whitney ($p < 0,05$). Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

6.4 FRAÇÃO SOLÚVEL DE ST2 (sST2)

Ao avaliar as concentrações de sST2 canino relacionadas à presença de ICC, comparando-se o grupo controle (38,31 pg/mL, P_{25} - P_{75} =30,02-48,62), animais com DVCM sem ICC (32,95 pg/mL, P_{25} - P_{75} =25,22-48,30) e com ICC (42,86 pg/mL, P_{25} - P_{75} =32,82-52,12), observaram-se valores maiores no grupo de cães com ICC ao primeiro momento de avaliação (dia 0) (Figura 8A). As concentrações de sST2 também apresentaram-se significativamente aumentadas nos cães com ICC (51,97 pg/mL, P_{25} - P_{75} =37,20-67,23), comparadas ao grupo sem ICC (40,02 pg/mL, P_{25} - P_{75} =29,04-56,20) à segunda coleta, após 60 dias (Figura 8B).

No entanto, ao estratificar a amostra nos diferentes estágios da DVCM, ao dia 0, os valores séricos de sST2 canino não diferiram significativamente entre os grupos A (38,31pg/mL, P_{25} - P_{75} =30,02-48,62), B1 (32,20pg/mL, P_{25} - P_{75} =22,65-48,72), B2 (32,95pg/mL, P_{25} - P_{75} =28,51-43,53), C (39,26pg/mL, P_{25} - P_{75} =31,79-51,0) e D (43,62pg/mL, P_{25} - P_{75} =39,15-61,11) (Figura 8C). Na segunda coleta (dia 60) observou-se diferença apenas entre os grupos B2 (31,85pg/mL, P_{25} - P_{75} =27,18-54,58) e D (63,05pg/mL, P_{25} - P_{75} =43,92-67,48), como apresentado na figura 8D.

Figura 8 - Representações box-plot (mediana; P_{25} , P_{75} ; mínimo e máximo) das concentrações séricas de sST2, em cães agrupados de acordo com a presença ou não de ICC ao dia 0 (A) e ao dia 60 (B), e entre os estágios da doença valvar crônica de mitral (DVCM), ao dia 0 (C) e ao dia 60 (D).

Nota: Para análise utilizou-se teste de Kruskal-Wallis entre três ou mais grupos, com pós teste de Dunn, ou teste de Mann-Whitney entre dois grupos ($P<0,05$). Letras distintas entre grupos diferiram pelo teste de Dunn. Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

Ao comparar os valores das concentrações séricas de sST2 canino, entre os dois momentos de coleta (dias 0 e 60), nos grupos B1, B2, C e D, não houve diferença após 60 dias, para nenhum dos grupos. Para esta análise, como a distribuição dos valores de sST2 em cada grupo foi não-paramétrica, com tamanho amostral distinto entre os grupos, foi realizado teste de Wilcoxon (teste pareado) na comparação entre os momentos dentro de cada grupo, considerando-se o valor de P corrigido pelo ajuste de Bonferroni ($P < 0,0125$) (Figura 9).

Figura 9 - Representação box-plot (mediana; P_{25} , P_{75} ; mínimo e máximo) das concentrações séricas de sST2 canino mensuradas em dois momentos com intervalo de 60 dias (dia 0 e dia 60) em cães com DVCM, nos estágios B1, B2, C e D.

Nota: Para a análise, foi utilizado teste de Wilcoxon, com correção do valor de P pelo ajuste de Bonferroni ($P < 0,0125$). Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

6.5 N-TERMINAL PEPTÍDEO TIPO B (NT-proBNP)

Ao primeiro dia de avaliação, as concentrações plasmáticas de NT-proBNP diferiram entre o grupo controle (438 pmol/L, P_{25} - P_{75} =306-687), cães com DVCM sem ICC (847 pmol/L, P_{25} - P_{75} =484-1309) e cães com ICC (3701 pmol/L, P_{25} - P_{75} =1535-5786) ($P<0,0001$), como apresentado na figura 10A. Após 60 dias, os valores deste biomarcador também foram significativamente maiores ($P<0,0001$) nos animais com ICC (4163 pmol/L, P_{25} - P_{75} =1364-5950) em relação ao grupo sem ICC (727 pmol/L, P_{25} - P_{75} =513-1356) (Figura 10B).

Avaliando-se o NT-proBNP entre os estágios da DVCM, ao dia 0, observou-se aumento de suas concentrações de acordo com a progressão da doença. A concentração de NT-proBNP no grupo A (438 pmol/L, P_{25} - P_{75} =306-687) foi semelhante ao grupo B1 (572 pmol/L, P_{25} - P_{75} =361-955), porém foi menor comparada aos demais. Da mesma forma, o grupo B1 não se diferenciou de B2 (1175 pmol/L, P_{25} - P_{75} =953-1943), entretanto foi inferior aos grupos C (3563 pmol/L, P_{25} - P_{75} =1300-5783) e D (4409 pmol/L, P_{25} - P_{75} =1535-6076) ($P<0,0001$). Não houve diferença significativa entre os grupos B2, C e D (Figura 10C).

Ao dia 60, os grupos C (2872 pmol/L, P_{25} - P_{75} =948-5157) e D (4680 pmol/L, P_{25} - P_{75} =1831-7606) não diferiam do grupo B2 (1343 pmol/L, P_{25} - P_{75} =762-1689), porém foram maiores comparados ao grupo B1 (651 pmol/L, P_{25} - P_{75} =455-905) ($P<0,0001$) para a concentração de NT-proBNP (Figura 10D).

Figura 10 - Representações box-plot (mediana; P_{25} , P_{75} ; mínimo e máximo) das concentrações plasmáticas de NT-proBNP, em cães agrupados de acordo com a presença ou não de ICC ao dia 0 (A) e ao dia 60 (B), e entre os estágios da doença valvar crônica de mitral (DVCM), ao dia 0 (C) e ao dia 60 (D).

Nota: Para análise utilizou-se teste de Kruskal-Wallis entre três ou mais grupos, com pós teste de Dunn, ou teste de Mann-Whitney entre dois grupos ($P < 0,05$). Letras distintas entre grupos diferiram pelo teste de Dunn. Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

Não houve diferença significativa das concentrações plasmáticas de NT-proBNP entre os dois momentos avaliados, nos estágios B1, B2, C e D, como mostra a figura 11.

Figura 11 - Representação box-plot (mediana; P_{25} , P_{75} ; mínimo e máximo) das concentrações plasmáticas de NT-proBNP canino mensuradas em dois momentos com intervalo de 60 dias (dia 0 e dia 60) em cães com DVCM, nos estágios B1, B2, C e D.

Nota: Para a análise, foi utilizado teste de Wilcoxon, com correção do valor de P pelo ajuste de Bonferroni ($P < 0,0125$). Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

6.6 TROPONINA I (cTnI)

Foram observados, ao dia 0, valores de troponina I (cTnI) superiores nos cães com ICC (0,09 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,05-0,15), em relação aos grupos controle (0,03 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,02-0,05) e com DVCM sem ICC (0,05 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,02-0,08) ($P < 0,0001$) (Figura 12A). Ao dia 60, o grupo com ICC novamente apresentou concentrações aumentadas (0,08 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,04-0,15), comparadas ao grupo sem ICC (0,03 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,03-0,06) ($P = 0,0002$), como apresentado na figura 12B.

Entre os estágios da DVCM, o grupo C (0,10 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,05-0,18) apresentou mensurações de cTnI aumentadas comparadas aos grupos A (0,03 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,02-0,05) e B1 (0,04 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,02-0,08), enquanto o grupo D (0,09 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,05-0,14) foi superior apenas em relação ao grupo A ($P < 0,0001$) (Figura 12C). Ao dia 60, os grupos C (0,08 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,04-0,13) e D

(0,11 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,05-0,17) demonstraram maiores valores em relação a B1 (0,03 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,02-0,05), não se diferenciando do grupo B2 (0,04 ng/dL, P_{25} - P_{75} =0,03-0,08) ($P=0,0005$), como mostra a figura 12D.

Figura 12 - Representações box-plot (mediana; P_{25} , P_{75} ; mínimo e máximo) das concentrações séricas de Troponina I (cTnI), em cães agrupados de acordo com a presença ou não de ICC ao dia 0 (A) e ao dia 60 (B), e entre os estágios da doença valvar crônica de mitral (DVCM), ao dia 0 (C) e ao dia 60 (D).

Nota: Para análise utilizou-se teste de Kruskal-Wallis entre três ou mais grupos, com pós teste de Dunn, ou teste de Mann-Whitney entre dois grupos ($P < 0,05$). Letras distintas entre grupos diferiram pelo teste de Dunn. Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

Não foi observada diferença significativa das concentrações séricas de cTnl entre os dois momentos avaliados, nos estágios B1, B2, C e D (Figura 13).

Figura 13 - Representação box-plot (mediana; P_{25} , P_{75} ; mínimo e máximo) das concentrações plasmáticas de NT-proBNP canino mensuradas em dois momentos com intervalo de 60 dias (dia 0 e dia 60) em cães com DVCM, nos estágios B1, B2, C e D.

Nota: Para a análise, foi utilizado teste de Wilcoxon, com correção do valor de P pelo ajuste de Bonferroni ($P < 0,0125$). Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015)- São Paulo - 2016

6.7 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO

Foi realizada análise de correlação entre os biomarcadores estudados, observando-se fraca correlação positiva do sST2 com NT-proBNP (Figuras 14A e 14B) e com cTnl (Figuras 14C e 14D), nos dois momentos avaliados (dias 0 e 60).

Figura 14 - Representações de correlação linear entre as concentrações dos biomarcadores sST2 e NT-proBNP ao dia 0 (A) e dia 60 (B), e entre sST2 e cTnI ao dia 0 (C) e dia 60 (D).

Nota: Para a análise, utilizou-se coeficiente de Spearman ($P < 0,05$). Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ - USP (2013-2015)- São Paulo - 2016

A associação entre biomarcadores e variáveis ecodopplercardiográficas também foi avaliada (Tabela 4).

O sST2 apresentou fraca correlação positiva com %DIVEd, relação E/TRIV e %DIVEs, além de fraca correlação negativa com onda A.

O NT-proBNP apresentou moderada correlação positiva com as variáveis AE/Ao, %DIVEd, E/Em_{par} e E/TRIV. Observou-se também fraca correlação positiva deste biomarcador com DIVEd, relação E/A, DIVEs e %DIVEs.

Houve fraca correlação positiva entre cTnI e as variáveis AE/Ao, DIVEd, %DIVEd, E/A, E/Em_{par} e E/TRIV. Tanto as mensurações de cTnI quanto de NT-proBNP demonstraram fraca correlação negativa com TRIV.

Embora o índice %DIVEs tenha se correlacionado com as concentrações de sST2 e de NT-proBNP, outros parâmetros de avaliação da função sistólica, como FE e FS, não se correlacionaram com os três biomarcadores avaliados. Os valores da análise de correlação estão descritos na tabela 4.

Tabela 3 - Valores de análise de correlação entre variáveis ecocardiográficas e concentrações dos biomarcadores sST2, NT-proBNP e Troponina I (cTnI) por meio do coeficiente de Spearman ($P < 0,05$).

Variáveis ECO	sST2		NT-proBNP		cTnI	
	Spearman <i>r</i>	P	Spearman <i>r</i>	P	Spearman <i>r</i>	P
AE/Ao	0,1769	0,1238	0,6518	<0,0001	0,2821	0,0129
DIVEd	0,1516	0,1853	0,4776	<0,0001	0,2270	0,0443
%DIVEd	0,2509	0,0278	0,6227	<0,0001	0,3835	0,0006
Onda E	-0,0127	0,9117	-0,0161	0,8876	0,0885	0,4408
Onda A	-0,2503	0,0292	0,0994	0,3830	0,0213	0,8531
E/A	0,1070	0,3510	0,4484	<0,0001	0,3059	0,0061
E/Em _{par}	0,1856	0,1084	0,5633	<0,0001	0,3553	0,0016
TRIV	-0,1972	0,0856	-0,3716	0,0008	-0,3292	0,0035
E/TRIV	0,2837	0,0124	0,5691	<0,0001	0,3386	0,0026
DIVEs	0,1208	0,2920	0,3816	0,0005	0,1432	0,2080
%DIVEs	0,2234	0,0493	0,4514	<0,0001	0,2036	0,0719
FE%	-0,0727	0,5267	0,0440	0,7002	0,0577	0,6130
FS%	-0,1157	0,3130	0,1201	0,2919	0,1405	0,2169

Nota: AE/Ao, relação átrio esquerdo aorta; DIVEd, diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole; %DIVEd, mudança percentual do diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole, em relação ao diâmetro esperado; Onda E, pico de velocidade de enchimento ventricular inicial; Onda A, pico de velocidade de enchimento ventricular tardio; Em_{par}, pico de velocidade diastólica inicial tecidual parietal; TRIV, tempo de relaxamento isovolumétrico; DIVEs, diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole; %DIVEs, mudança percentual do diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole, em relação ao diâmetro esperado; FE%, fração de ejeção; FS%, fração de encurtamento.

6.8 SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DOS BIOMARCADORES

Com o objetivo de identificar valores de corte de sST2, NT-proBNP e cTnI para a predição de ICC na população de cães estudada, foram avaliadas sensibilidade e especificidade de cada biomarcador, por meio de análise de curva ROC (*receiver operating characteristic*), considerando somente cães com DVCM (79 cães) e, posteriormente, todos os animais, incluindo o grupo controle (139 cães).

Na análise com 79 cães, os valores de áreas sob a curva (AUC) foram de 0,66 para o sST2 (Figura 15A), 0,86 para o NT-proBNP (Figura 15C) e 0,76 para a cTnI (Figura 15E). Considerando os 139 animais, os valores de AUC foram: 0,62 para sST2 (Figura 15B), 0,90 para NT-proBNP (Figura 15D) e 0,82 para cTnI (Figura 15F).

Figura 15 - Representações das curvas ROC (receiver operating characteristic) de sST2 (A), NT-proBNP (C) e Troponina I (E) para a predição de ICC em 79 cães com DVCM; e de sST2 (B), NT-proBNP (D) e Troponina I (F) em 139 cães do estudo.

O valor de corte de 40 pg/mL de sST2 apresentou melhor combinação entre sensibilidade (58%) e especificidade (62,5%) para a detecção de ICC na população estudada (cães com DVCM). Um valor de corte de 30 pg/mL, priorizando a sensibilidade (87%), determinou redução da especificidade (37,5%), enquanto que um valor de 50 pg/ml proporcionou aumento da especificidade (79%) às custas da sensibilidade (34%) (Tabela 5).

Neste estudo, os melhores valores de corte de NT-proBNP, para o diagnóstico de ICC, foram 1200 pmol/L (sensibilidade: 84%; especificidade: 76%) e 1500 pmol/L (sensibilidade: 77%; especificidade: 85%) (Tabela 5).

Em relação a troponina I (cTnI), o valor de 0,07 ng/dL apresentou melhor combinação de sensibilidade (65%) e especificidade (72%), como mostra a tabela 5.

Tabela 4 - Análise de área sob a curva ROC (*Receiver-Operator Characteristic*) e valores de corte das concentrações dos biomarcadores sST2, NT-proBNP e Troponina I (cTnI), para a detecção de ICC, em 79 cães com DVCM.

Biomarcador	Valor de Corte	Sensibilidade	Especificidade
sST2			
AUC = 0,66	> 30 pg/mL	87,0 %	37,5 %
IC _{95%} = 0,54-0,78	> 40 pg/mL	58,0 %	62,5 %
P = 0,0169	> 50 pg/mL	34,0 %	79,0 %
NT-proBNP			
AUC = 0,86	> 900 pmol/L	87,0 %	53,0 %
IC _{95%} = 0,77-0,96	> 1200 pmol/L	84,0 %	76,0 %
P < 0,0001	> 1500 pmol/L	77,0 %	85,0 %
cTnI			
AUC = 0,76	> 0,03 ng/dL	87,0 %	44,0 %
IC _{95%} = 0,66-0,87	> 0,07 ng/dL	65,0 %	72,0 %
P < 0,0001	> 0,11 ng/dL	45,0 %	89,0 %

Nota: AUC, área sob a curva; IC_{95%}, intervalo de confiança de 95%.

6.9 ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA

Avaliando as concentrações séricas de sST2, observou-se que os cães com mensurações superiores a 40 pg/mL apresentaram sobrevida significativamente menor comparada a dos cães com concentrações séricas inferiores ($P=0,0029$). O tempo médio de sobrevida do grupo de cães com valores maiores de 40 pg/mL foi de 756 dias. Não foi possível determinar o tempo médio de sobrevida do grupo de cães com concentrações abaixo de 40 pg/mL, uma vez que 85% dos animais sobreviveram ao final do período de observação (Figura 16A).

Em relação às concentrações séricas de troponina I (cTnI), não houve diferença significativa na análise de sobrevivência, utilizando-se como valor de corte 0,07 ng/mL ($P=0,0593$) ou 0,11 ng/mL ($P=0,2579$) (Figura 16B).

Figura 16 - Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier para análise de mortalidade durante o período de acompanhamento do estudo, de acordo com valores de corte para sST2 (A), Troponina I (B) e NT-proBNP (C e D).

Houve diferença significativa na análise de sobrevivência com dois valores de corte de NT-proBNP. O tempo médio de sobrevida dos cães com mensurações plasmáticas deste biomarcador acima de 900 pmol/L foi de 756 dias, ao passo que 92% dos animais com concentrações inferiores sobreviveram ao final do período de observação ($P=0,0021$) (Figura 16C). O grupo de cães com concentrações NT-proBNP maiores que 1500 pmol/L apresentou tempo médio de sobrevida de 513 dias, enquanto que 93% dos cães com mensurações menores que 1500 pmol/L sobreviveram ao término do período de observação ($P<0,0001$) (Figura 16D).

6.10 DESEMPENHO DOS TESTES

Os biomarcadores foram avaliados quanto à contribuição ao diagnóstico de ICC na população estudada, elegendo-se os valores de corte de sST2, NT-proBNP e cTnI com base nas melhores combinações de sensibilidade e especificidade para este propósito. Nesta análise, foram determinadas probabilidade pré-teste dos cães apresentarem ICC, sensibilidade, especificidade, valores preditivos (positivo e negativo), razões de verossimilhança (positiva e negativa), chance pré-teste, chance pós-teste, probabilidade pós-teste, acréscimo na capacidade de diagnóstico e acurácia para cada biomarcador avaliado (Tabela 6).

De acordo com o teste qui quadrado, utilizando-se o valor de corte de 40 pg/mL, as mensurações de sST2 não permitiram a identificação de ICC nos cães avaliados ($P=0,1525$). Por esta razão, apenas os valores relacionados ao desempenho dos testes de NT-proBNP e cTnI, no auxílio ao diagnóstico de ICC, estão apresentados na tabela 6.

Utilizando-se o valor de corte de 900 pmol/L de NT-proBNP, o teste apresentou acurácia de 75% na identificação de ICC. A probabilidade pós-teste foi de 55%, com acréscimo de 26% na capacidade diagnóstica ($P<0,0001$). Aumentando-se o valor de corte para 1500 pmol/L, a acurácia do teste passou a 87%, com probabilidade pós-teste de 75% e acréscimo de 46% na capacidade diagnóstica ($P<0,0001$) (Tabela 6).

Tabela 5 - Desempenho dos testes de NT-proBNP e cTnI no auxílio ao diagnóstico da ICC em 139 cães.

	Valor de corte	ICC		Probabil pré-teste (%)	S (%)	E (%)	VPP (%)	VPN (%)	Razão de Verossim.		Chance pré-teste ICC	Chance pós-teste ICC	Probabil pós-teste (%)	Acréscimo capacidade diag. (%)	Acurácia (%)	P
		+	-						+	-						
NT-proBNP pmol/L	≥900	27	30	29	87	72	47	95	3,13	0,18	0,40	1,25	55	26	75	<0,0001
	<900	4	78													
NT-proBNP pmol/L	≥1500	24	11	29	77	90	69	93	7,60	0,25	0,40	3,04	75	46	87	<0,0001
	<1500	7	97													
cTnI ng/dL	≥0,07	21	23	29	68	79	48	89	3,18	0,41	0,40	1,27	56	27	76	<0,0001
	<0,07	10	85													
cTnI ng/dL	≥0,11	14	11	29	45	90	56	85	4,43	0,61	0,40	1,77	64	35	79	0,0014
	<0,11	17	97													

Nota: probabil: probabilidade; S: sensibilidade; E: especificidade; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; Verossim.: verossimilhança; ICC: insuficiência cardíaca congestiva; diag.: diagnóstico; sST2: fração solúvel de ST2; NT-proBNP: N-terminal BNP; cTnI: troponina I cardíaca.

A dosagem de cTnI, com valor de corte de 0,07 ng/dL, determinou uma acurácia de 76%, probabilidade pós-teste de 56% e acréscimo de 27% na capacidade diagnóstica ($P<0,0001$). Com o valor de corte de 0,11 ng/dL, observou-se aumento da acurácia (79%), da probabilidade pós-teste (64%), com acréscimo de 35% na capacidade diagnóstica ($P=0,0014$), como apresentado na tabela 6.

Os biomarcadores também foram avaliados em relação ao benefício prognóstico. Nesta análise, a determinação de concentrações séricas de sST2, utilizando-se valor de corte de 40 pg/mL, apresentou acurácia de 66%, com probabilidade pós-teste de 42% e acréscimo na capacidade de predição de mortalidade de 15% ($P=0,0139$) (Tabela 7).

Utilizando-se o valor de corte de 1500 pmol/L, o NT-proBNP apresentou acurácia de 73%, probabilidade pós-teste de 50%, com acréscimo de 23% na predição de mortalidade ($P<0,0001$) (Tabela 7).

As concentrações séricas de cTnI, de acordo com o teste qui quadrado, não contribuíram para a predição de mortalidade, utilizando-se os valores de corte de 0,07 ng/dL ($P=0,1063$) ou 0,11 ng/dL ($P=0,3241$).

Tabela 6 - Desempenho dos testes de sST2, NT-proBNP e cTnI na predição de mortalidade em 79 cães com DVCm.

	Valor de corte	Óbito		Probabil pré-teste (%)	S (%)	E (%)	VPP (%)	VPN (%)	Razão de Verossim.		Chance pré-teste Óbito	Chance pós-teste Óbito	Probabil pós-teste (%)	Acréscimo capacidade predição (%)	Acurácia (%)	P
		+	-						+	-						
sST2 pg/mL	≥40	15	21	27	71	64	42	86	1,97	0,45	0,37	0,73	42	15	66	0,0139
	<40	6	37													
sST2 pg/mL	≥30	19	38	27	90	34	33	91	1,38	0,28	0,37	0,51	34	7	49	0,0288
	<30	2	20													
NT-proBNP pmol/L	≥900	19	32	27	90	45	37	93	1,64	0,21	0,37	0,61	38	11	57	0,0038
	<900	2	26													
NT-proBNP pmol/L	≥1500	17	17	27	81	70	50	91	2,76	0,27	0,37	1,02	50	23	73	<0,0001
	<1500	4	41													

Nota: probabil: probabilidade; S: sensibilidade; E: especificidade; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; Verossim.: verossimilhança; sST2: fração solúvel de ST2; NT-proBNP: N-terminal BNP; cTnI: troponina I cardíaca.

7 DISCUSSÃO

As concentrações séricas de sST2 dos cães com ICC secundária à DVCM apresentaram-se aumentadas em comparação aos cães sem ICC, tanto ao primeiro momento de avaliação quanto após 60 dias. Concentrações aumentadas deste biomarcador, também foram relatadas em pacientes humanos com ICC aguda (JANUZZI et al., 2007; PASCUAL-FIGAL et al., 2009; ALDOUS et al., 2012; HENRY-OKAFOR et al., 2012).

No que se refere ao desempenho do sST2 como biomarcador no diagnóstico da ICC, os resultados deste estudo demonstraram que a contribuição do sST2 ao diagnóstico de ICC foi limitada e inferior a dos demais biomarcadores avaliados, da mesma forma que é relatado em humanos (JANUZZI et al., 2007). A análise de curva ROC, demonstrou menor valor de área sob a curva (AUC) para o sST2 (0,62) em comparação ao NT-proBNP (0,90) e a troponina I (cTnI) (0,82). Os valores de sensibilidade (58%) e especificidade (62,5%) para a detecção de ICC (valor de corte de 40 pg/mL) diferiram dos obtidos em um estudo em pacientes humanos, em que o sST2 demonstrou capacidade para o diagnóstico de ICC equivalente a do NT-proBNP, com sensibilidade de 73,2% e especificidade de 79,6% (ALDOUS et al., 2012). Porém estes resultados são semelhantes aos observados em outro estudo que demonstrou AUC de 0,62 para identificação de síndrome IC aguda, em pacientes humanos atendidos em um serviço de emergência (HENRY-OKAFOR et al., 2012).

Ao se estratificar os grupos, com distribuição dos cães entre os estágios da DVCM, não foi observada diferença significativa das concentrações séricas de sST2 entre os grupos, pela redução do poder do teste e a diferença relativamente pequena entre os grupos. Uma amostra maior seria necessária para identificar possíveis diferenças na concentração do sST2 entre os estágios. O NT-proBNP, por sua vez, conseguiu diferenciar tanto os cães com ICC quanto os animais em fases mais avançadas da DVCM (grupos C e D), na análise entre os estágios da doença, comprovando sua utilidade como marcador diagnóstico na espécie canina (DEFRANCESCO et al., 2007; PROSEK et al., 2007; REYNOLDS; OYAMA, 2008;

FOX et al., 2009). Do mesmo modo, também foi possível diferenciar cães com ICC e em estágios mais avançados da doença, comparados aos cães do grupo controle e em estágio B1 com base na concentração da cTnI, corroborando com estudos que confirmam o valor diagnóstico destes testes em cães (OYAMA; SISSON, 2004; SPRATT et al., 2005).

A avaliação de desempenho do teste, indicou limitações na capacidade do sST2 como teste diagnóstico para a detecção de ICC. Utilizando-se o valor de corte de 40 pg/mL, não foi possível diferenciar cães com e sem ICC pelo teste Qui-quadrado. Deve-se considerar, entretanto, que o estudo não foi delineado com este objetivo, sendo esta uma análise exploratória adicional. O NT-proBNP, por sua vez, demonstrou acurácia de 87%, com acréscimo de 46% na capacidade diagnóstica quando foi utilizado 1500 pmol/L como valor de corte. Utilizando-se o valor de corte de 900 pmol/L, sugerido pelo laboratório que desenvolveu o teste, obteve-se acurácia de 75%, com acréscimo de 26% na capacidade diagnóstica.

Assim como observado neste estudo, a inferioridade do sST2 como teste diagnóstico para ICC, em comparação ao NT-proBNP, foi descrita em humanos. Embora as concentrações de sST2 tenham permitido diferenciar pacientes manifestando dispneia secundária a ICC, o NT-proBNP foi superior para definir este diagnóstico (JANUZZI et al., 2007).

O grau de comprometimento da função miocárdica também pode influenciar as concentrações séricas de sST2, segundo estudo que observou mensurações aumentadas deste biomarcador em pacientes com ICC associada à disfunção sistólica, em comparação àqueles com ICC e função miocárdica preservada (MANZANO-FERNÁNDEZ et al., 2011). Diferentemente do observado nas cardiomiopatias e afecções miocárdicas isquêmicas (mais frequentes em humanos) um grau significativo de disfunção sistólica é esperado apenas em estágios avançados da DVCM (KITTLESON et al., 1984; MCGINLEY et al., 2007), o que pode contribuir para a redução na capacidade diagnóstica do sST2 em detectar ICC secundária a DVCM na espécie canina.

Observou-se correlação entre as concentrações séricas de sST2 e as mensurações de NT-proBNP e cTnI, tanto ao primeiro dia de avaliação quanto após 60 dias. Mesmo sendo considerada correlação de fraca magnitude (SANTOS, 2007), a associação observada entre os valores de sST2 com NT-proBNP e cTnI sugere

que o uso combinado destes biomarcadores pode acrescentar valor diagnóstico ou prognóstico em uma análise de regressão multivariada. Estes resultados estão de acordo com o conceito de que o sST2 não detém suficiente poder diagnóstico para ser utilizado de forma isolada (MAY KHAN; KY, 2012), porém, associado a um perfil de biomarcadores cardíacos, pode contribuir para uma avaliação mais precisa do quadro clínico do paciente (REHMAN; MUELLER; JANUZZI, 2008; KY et al., 2011; ALDOUS et al., 2012; FRIÕES et al., 2015).

Embora os índices ecodopplercardiográficos de função diastólica, em pacientes humanos, tenham se correlacionado apenas com o NT-proBNP, não havendo associação com o sST2 (SHAH et al., 2011), neste estudo observou-se correlação positiva entre concentrações de sST2 e as variáveis mudança percentual do diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole (%DIVEd), relação E/TRIV e onda A. O desenvolvimento de ICC secundária à DVCM está, principalmente, relacionado à sobrecarga de volume, com consequente aumento da pressão de enchimento do VE e à potencial progressiva disfunção diastólica do paciente, muitas vezes reconhecida por mudanças no padrão das ondas do fluxo transmitral e pelo aumento da relação E/TRIV (SCHOBER et al., 2010). A correlação observada entre o sST2 e as variáveis ecodopplercardiográficas relacionadas à função diastólica foram fracas, entretanto deve-se considerar que os mecanismos que resultam no aumento das concentrações deste biomarcador são, em parte, fisiologicamente distintos das provas de imagem que avaliam o aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo (SHAH et al., 2011). Além disso, parâmetros que apresentam correlação, mesmo que fraca, podem contribuir aumentando o valor diagnóstico em uma análise multivariada.

Ainda que o sST2 não tenha obtido um bom desempenho como teste diagnóstico de ICC, sua contribuição na avaliação do prognóstico foi estudada por meio de análise de sobrevivência. Observou-se que o grupo de cães com concentrações séricas de sST2 maiores que 40 pg/mL apresentou sobrevida significativamente inferior quando comparada ao grupo com menores concentrações de sST2. Estes resultados indicaram que o sST2 possuiu valor prognóstico, como preditor de mortalidade, nos cães avaliados em diferentes estágios da DVCM. Em concordância com estes resultados, estudos conduzidos em pacientes humanos, apontaram o sST2 como importante preditor de mortalidade, independente de outros

biomarcadores (WEINBERG et al., 2003; JANUZZI et al., 2007; BOISOT et al., 2008; PASCUAL-FIGAL et al., 2009; SHAH et al., 2011; JANUZZI; MEBAZAA; DI SOMMA, 2015).

A avaliação de desempenho comprovou a utilidade do sST2, independente de outros testes, para prever mortalidade, demonstrando acurácia de 66%, e acréscimo de 15% na capacidade de predição de mortalidade comparado à capacidade antes de realizar o teste. Embora o NT-proBNP tenha demonstrado resultados superiores, com acurácia de 73% e 23% de acréscimo na predição de mortalidade, é importante ressaltar a ausência de cães apresentando comorbidades no estudo, como doença renal, uma vez que este foi um critério de exclusão. O NT-proBNP e a cTnI são influenciados pelo comprometimento da função renal, com perda de confiabilidade em seus resultados (OYAMA; SISSON, 2004; FOX et al., 2009; BROCH et al., 2012; SANTHANAKRISHNAN et al., 2012; OYAMA, 2013; LANGHORN; WILLESEN, 2015). O sST2, por sua vez, é relatado como um biomarcador cardíaco que não sofre influência relacionada à alteração na função renal em humanos, podendo ser particularmente útil na previsão de desfechos em pacientes com ICC e insuficiência renal (GAGGIN; JANUZZI, 2013).

O valor preditivo positivo (VPP) foi baixo para o sST2 na previsão de óbito, mas o valor preditivo negativo (VPN) foi alto (86% para o ponto de corte de 40 pg/mL e 91% para 30 pg/mL). Desta forma, se a concentração de sST2 é menor que 40 pg/mL há uma probabilidade de 86% do indivíduo não atingir o desfecho (morte) e se a concentração de sST2 for menor que 30 pg/mL, a probabilidade é de 91%, a mesma do NT-proBNP para valor inferior a 1500 pmol/L.

A variabilidade quanto ao gênero ou idade foi avaliada nos cães do grupo controle, demonstrando que não houve diferença significativa das mensurações de sST2 entre fêmeas e machos, e entre cães com idade inferior ou superior a 6 anos. Em pacientes humanos, o sST2 é caracterizado por não apresentar variabilidade relacionada a idade, gênero, índice de massa corporal ou comprometimento da função renal, enquanto isso ocorre com o NT-proBNP e cTnI (GAGGIN; JANUZZI, 2013; OYAMA, 2013; LANGHORN; WILLESEN, 2015). Também não houve diferença nas concentrações plasmáticas de NT-proBNP, relacionadas a idade ou gênero, no grupo controle.

As concentrações de cTnI não diferiram quanto ao gênero, entretanto os cães com mais de 6 anos de idade apresentaram valores maiores de cTnI em relação aos mais jovens, demonstrando variabilidade relacionada a idade para este biomarcador. Fatores como alteração na função renal, idade ou raça podem influenciar a concentração sérica de cTnI, segundo a literatura (OYAMA; SISSON, 2004; ZALDÍVAR-LÓPEZ et al., 2011; LANGHORN; WILLESEN, 2015).

Em relação ao exame físico, os maiores valores de frequência cardíaca (FC) observados nos cães com ICC, se justificam pela ativação do sistema nervoso autônomo simpático, com liberação de catecolaminas endógenas, manifestada nos estágios mais avançados da DVCM (ATKINS et al., 2009; OYAMA, 2009).

A frequência respiratória (FR) também foi maior no grupo de cães com ICC, refletindo a possível presença de congestão pulmonar, podendo haver algum grau de edema pulmonar, com consequente comprometimento respiratório destes animais. De fato nove cães dos grupos C e D apresentavam evidências radiográficas de congestão e oito animais apresentavam edema pulmonar. A FR está intimamente relacionada à congestão pulmonar, sendo um parâmetro por vezes mais eficaz para detectar ICC do que vários índices ecodopplercardiográficos (SCHOBBER et al., 2010).

Os valores de pressão arterial sistólica (PAS), ao contrário do observado com a FC e FR, foram menores nos cães com ICC. Isto possivelmente se deve ao fato dos cães em estágios C e D da DVCM receberem tratamento com fármacos vasodilatadores e diuréticos, como inibidores de enzima conversora de angiotensina, furosemida e espironolactona. Além disso, um provável comprometimento da função miocárdica pode ter contribuído para reduzir a PAS nestes animais, uma vez que variáveis ecodopplercardiográficas de avaliação da função sistólica, como a medida do diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole (DIVEs) e a mudança percentual do diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole (%DIVEs) apresentaram-se aumentadas nos grupos C e D, em comparação aos grupos A e B1. Estes índices ecodopplercardiográficos também refletem a gravidade da doença, pois o aumento do DIVEs indica comprometimento da função sistólica do paciente (CORNELL et al., 2004; BORGARELLI et al., 2007; HÄGGSTRÖM et al., 2008).

Outros índices de avaliação da função sistólica, como fração de ejeção (FE%) e fração de encurtamento (FS%) não diferiram entre estágios iniciais e avançados

da DVCM, confirmando sua aplicação limitada na presença de insuficiência valvar, uma vez que são influenciados por pré e pós-carga (CHETBOUL; TISSIER, 2012).

As variáveis ecodopplercardiográficas relacionadas ao aumento da pressão de enchimento do ventrículo esquerdo, que auxiliam na avaliação da função diastólica, como DIVEd, %DIVEd, onda E do fluxo transmitral, relação E/TRIV e relação E/Em_{par}, apresentaram-se aumentadas nos cães dos grupos C e D, em comparação aos grupos A e B1. Estes resultados confirmam o gradativo comprometimento da função diastólica nos cães com ICC (estágios C e D da doença), em concordância com estudos que atestam a associação entre disfunção diastólica e o desenvolvimento das manifestações clínicas de ICC na DVCM (BORGARELLI et al., 2008; SCHOBER et al., 2010).

Por fim, as medidas aumentadas de VHS nos cães com ICC, em relação aos sem ICC, refletem o remodelamento cardíaco secundário à sobrecarga de volume e aumento das pressões de enchimento das câmaras cardíacas esquerdas, conforme ocorre a progressão da DVCM (BUCHANAN; BÜCHELER, 1995; ATKINS et al., 2009; BORGARELLI; BUCHANAN, 2012; FOX, 2012).

8 CONCLUSÕES

Com base na metodologia aplicada e nos resultados obtidos na população estudada, conclui-se que:

1. As concentrações séricas de sST2 canino não apresentaram variabilidade relacionada ao gênero ou à idade em cães saudáveis;
2. Cães com ICC secundária à DVCM apresentam concentrações séricas de sST2 maiores em relação aos cães sem ICC;
3. A capacidade do sST2 para detectar ICC em cães com DVCM, como teste diagnóstico utilizado isoladamente, é limitada e inferior à do NT-proBNP e da troponina I (cTnI);
4. A mensuração de sST2 não detém poder diagnóstico para identificar o estágio da DVCM na espécie canina;
5. A correlação observada entre as concentrações de sST2, variáveis ecodopplercardiográficas de avaliação da função diastólica e biomarcadores NT-proBNP e cTnI, sugere que o sST2 pode acrescentar valor diagnóstico, quando utilizado associado a outros biomarcadores cardíacos e exames de imagem;
6. A mensuração de sST2 possuiu valor prognóstico em cães com DVCM, como preditor de mortalidade independente de outros biomarcadores, uma vez que concentrações séricas superiores a 40 pg/mL determinam maior ocorrência de óbito nestes animais.

9 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Os critérios rígidos de seleção limitaram o recrutamento de pacientes no grupo D, o que determinou um menor número de animais neste grupo (n=11). Cães em estágio avançado de DVCM e refratários ao tratamento, geralmente portavam comorbidades, como doença renal crônica (DRC), neoplasia ou doença periodontal grave, que poderiam interferir nas concentrações dos biomarcadores avaliados. A inclusão destes animais, principalmente com doença renal crônica, embora pudesse comprometer a avaliação dos biomarcadores, particularmente do NT-proBNP e cTnI, talvez permitisse uma análise mais fidedigna dos grupos em estágios mais avançados da DVCM. Futuros estudos prospectivos devem ser realizados para melhor avaliar o papel do sST2 e outros biomarcadores na avaliação prognóstica de população canina com DVCM, sem restrições de comorbidades.

REFERÊNCIAS

ALDOUS, S. J.; RICHARDS, A. M.; TROUGHTON, R.; THAN, M. ST2 has diagnostic and prognostic utility for all-cause mortality and heart failure in patients presenting to the emergency department with chest pain. **Journal of Cardiac Failure**, v. 18, n. 4, p. 304–310, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cardfail.2012.01.008>>. Acesso em: 1 jun. 2014.

ALPERT, J. S.; THYGESEN, K. Myocardial infarction redefined — a consensus document of the Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction The Joint European Society of Cardiology / American College of Card. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 36, n. 3, p. 959–969, 2000.

ATKINS, C.; BONAGURA, J.; ETTINGER, S.; FOX, P.; GORDON, S.; HAGGSTROM, J.; HAMLIN, R.; KEENE, B.; LUIS-FUENTES, V.; STEPIEN, R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 1, p. 1142–1150, 2009.

BANSAL, S.; DESTEFANO, A. Key elements of bioanalytical method validation for small molecules. **The AAPS Journal**, v. 9, n. 1, p. 109–114, 2007. Disponível em: <<http://www.aapsj.org>>. Acesso em: 1 fev. 2013.

BARTUNEK, J. Biomarkers: old-new , cardiac-noncardiac , all paving the way for better stratification in heart failure. Foreword. **Biomarkers in Medicine**, v. 3, n. 5, p. 435–437, 2009. Disponível em: <<http://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/bmm.09.64>>. Acesso em: 1 fev. 2013.

BOISOT, S.; BEEDE, J.; ISAKSON, S.; CHIU, A.; CLOPTON, P.; JANUZZI, J.; MAISEL, A. S.; FITZGERALD, R. L. Serial sampling of ST2 predicts 90-day mortality following destabilized heart failure. **Journal of Cardiac Failure**, v. 14, n. 9, p. 732–738, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cardfail.2008.06.415>>. Acesso em: 1 fev. 2016.

BONAGURA, J. D.; SCHOBER, K. E. Can ventricular function be assessed by echocardiography in chronic canine mitral valve disease? **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, p. 12–24, 2009. Supplement, 1.

BOON, J. **Veterinary echocardiography**. 2nd. ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2011.

BORGARELLI, M.; BUCHANAN, J. W. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 93–101, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jvc.2012.01.011>>. Acesso em: 1 jun. 2014.

BORGARELLI, M.; HÄGGSTRÖM, J. Canine degenerative myxomatous mitral valve disease: natural history, clinical presentation and therapy. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 40, n. 4, p. 651–663, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.03.008>>. Acesso em: 13 jun. 2013.

BORGARELLI, M.; SAVARINO, P.; CROSARA, S.; SANTILLI, R. a.; CHIAVEGATO, D.; POGGI, M.; BELLINO, C.; LA ROSA, G.; ZANATTA, R.; HAGGSTROM, J.; TARDUCCI, a. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 1, p. 120–128, 2008.

BORGARELLI, M.; 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 / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 1, p. 61–67, 2007.

BOSWOOD, A. Biomarkers in cardiovascular disease: beyond natriuretic peptides. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 11, p. S23–S32, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jvc.2009.01.003>>. Acesso em: 1 fev. 2013. Supplement, 1.

BOSWOOD, A.; DUKES-MCEWAN, J.; LOUREIRO, J.; JAMES, R. A.; MARTIN, M.; STAFFORD-JOHNSON, M.; SMITH, P.; LITTLE, C.; ATTREE, S. The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine cardiac disease. **Journal of Small Animal Practice**, v. 49, n. 1, p. 26–32, 2008.

BROCH, K.; UELAND, T.; YNDESTAD, A.; AUKRUST, P.; GULLESTAD, L. Heart failure biomarkers: Focus on interleukin-1 receptor-like 1-based blood tests. **Drugs of Today**, v. 48, n. 7, p. 479–491, 2012. Disponível em: <https://journals.prous.com/journals/servlet/xmlxsl/pk_journals.xml_summaryn_pr?p_JournalId=4&p_RefId=1811719>. Acesso em: 1 mar. 2015.

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. **Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 3, p. 542–558, 2007.

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

CHETBOUL, V. Tissue Doppler Imaging: a promising technique for quantifying regional myocardial function. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 4, n. 2, p. 7–12, 2002.

CHETBOUL, V.; ATHANASSIADIS, N.; CONCORDET, D.; NICOLLE, A.; TESSIER, D.; CASTAGNET, M.; POUCHOLON, J. L.; LEFEBVRE, H. P. Observer-dependent variability of quantitative clinical endpoints: the example of canine echocardiography. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 27, n. 1, p. 49–56, 2004.

CHETBOUL, V.; TISSIER, R. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 127–148, 2012.

CORNELL, C. C.; KITTLESON, M. D.; DELLA TORRE, P.; HÄGGSTRÖM, J.; LOMBARD, C. W.; PEDERSEN, H. D.; VOLLMAR, A.; WEY, A. Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, n. 3, p. 311–21, 2004.

DEFRANCESCO, T. C.; RUSH, J. E.; ROZANSKI, E. A.; HANSEN, B. D.; KEENE, B. W.; MOORE, D. T.; ATKINS, C. E. Prospective clinical evaluation of an ELISA B-type natriuretic peptide assay in the diagnosis of congestive heart failure in dogs presenting with cough or dyspnea. **Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. February 2003, p. 243–250, 2007.

DEMYANETS, S.; KAUN, C.; PENTZ, R.; KRYCHTIUK, K. A.; RAUSCHER, S.; PFAFFENBERGER, S.; ZUCKERMANN, A.; ALIABADI, A.; GRÖGER, M.; MAURER, G.; HUBER, K.; WOJTA, J. Components of the interleukin-33/ST2 system are differentially expressed and regulated in human cardiac cells and in cells of the cardiac vasculature. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 60, n. 1, p. 16–26, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.03.020>>. Acesso em: 3 fev. 2016.

EBISAWA, T.; OHTA, Y.; FUNAYAMA, M.; MORITA, K.; UECHI, M. Clinical use of n-terminal pro-brain natriuretic peptide concentrations for assessing the severity and prognosis of myxomatous mitral valve disease in dogs. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 10, n. 3, p. 234–242, 2012.

FALK, T.; LJUNGVALL, I.; ZOIS, N. E.; HÖGLUND, K.; OLSEN, L. H.; PEDERSEN, H. D.; HÄGGSTRÖM, J. Cardiac troponin-I concentration, myocardial arteriosclerosis, and fibrosis in dogs with congestive heart failure because of myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 3, p. 500–506, 2013.

FEITOSA, F. L. . **Semiologia veterinária - a arte do diagnóstico**. São Paulo: Sarvier, 2004.

FERREIRA, C. E. . **Biomarcadores em cardiologia: biomarcadores na prática clínica**. 1. ed. São Paulo: Sarvier, 2012.

FOX, P. R. Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 103–126, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jvc.2012.02.001>>. Acesso em: 1 jun. 2015.

FOX, P. R.; OYAMA, M. A.; HEZZELL, M. J.; RUSH, J. E.; NGUYENBA, T. P.; DEFRANCESCO, T. C.; LEHMKUHL, L. B.; KELLIHAN, H. B.; BULMER, B.; GORDON, S. G.; CUNNINGHAM, S. M.; MACGREGOR, J.; STEPIEN, R. L.; LEFBOM, B.; ADIN, D.; LAMB, K. Relationship of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentrations to heart failure classification and cause of respiratory distress in dogs using a 2nd generation ELISA assay. **Journal of**

Veterinary Internal Medicine, v. 29, n. 1, p. 171–179, 2015.

FOX, P. R.; OYAMA, M. A.; REYNOLDS, C.; RUSH, J. E.; DEFRANCESCO, T. C.; KEENE, B. W.; ATKINS, C. E.; MACDONALD, K. A.; SCHOBBER, K. E.; BONAGURA, J. D.; STEPIEN, L.; KELLIHAN, H. B.; NGUYENBA, T. P.; LEHMKUHL, L. B.; LEFBOM, B. K.; MOISE, N. S.; HOGAN, D. F. Utility of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) to distinguish between congestive heart failure and non-cardiac causes of acute dyspnea in cats. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 11, n. November 2008, p. S51–S61, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jvc.2008.12.001>>. Acesso em: 15 jun. 2015.

FRIÕES, F.; LOURENÇO, P.; LASZCZYNSKA, O.; ALMEIDA, P.-B.; GUIMARÃES, J.-T.; JANUZZI, J. L.; AZEVEDO, A.; BETTENCOURT, P. Prognostic value of sST2 added to BNP in acute heart failure with preserved or reduced ejection fraction. **Clinical research in cardiology: official journal of the German Cardiac Society**, v. 104, n. 6, p. 491–9, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25586507>>. Acesso em: 3 fev. 2016.

GAGGIN, H. K.; JANUZZI, J. L. Biomarkers and diagnostics in heart failure. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1832, n. 12, p. 2442–2450, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.12.014>>. Acesso em: 15 jun. 2015.

GEDDES, R. F.; FINCH, N. C.; ELLIOTT, J.; SYME, H. M. Fibroblast growth factor 23 in feline chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, p. 234–241, 2013.

HÄGGSTRÖM, J.; BOSWOOD, A.; O'GRADY, M.; JÖNS, O.; SMITH, S.; SWIFT, S.; BORGARELLI, M.; GAVAGHAN, B.; KRESKEN, J. G.; PATTESON, M.; ABLAD, B.; BUSSADORI, C. M.; GLAUS, T.; KOVACEVIC, A.; RAPP, M.; SANTILLI, R. A.; TIDHOLM, A.; ERIKSSON, A.; BELANGER, M. C.; DEINERT, M.; LITTLE, C. J. L.; KVART, C.; FRENCH, A.; RONN-LANDBO, M.; WESS, G.; EGGERTSDOTTIR, a. V.; O'SULLIVAN, M. L.; SCHNEIDER, M.; LOMBARD, C. W.; DUKES-MCEWAN, J.; WILLIS, R.; LOUVET, A.; DIFRUSCIA, R. Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 5, p. 1124–1135, 2008.

HÄGGSTRÖM, J.; HÖGLUND, K.; BORGARELLI, M. An update on treatment and prognostic indicators in canine myxomatous mitral valve disease. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. September, p. 25–33, 2009.

HAGMAN, R.; LAGERSTEDT, A.-S.; FRANSSON, B. A.; BERGSTRÖM, A.; HÄGGSTRÖM, J. Cardiac troponin I levels in canine pyometra. **Acta veterinaria Scandinavica**, v. 49, p. 6, 2007.

HANSSON, K.; HAGGSTROM, J.; KVART, C.; LORD, P. Left atrial to aortic root indices using two-dimensional and M- mode echocardiography in cavalier King Charles spaniels with and without left atrial enlargement. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 43, n. 6, p. 568–575, 2002.

HENRY-OKAFOR, Q.; COLLINS, S. P.; JENKINS, C. A.; MILLER, K. F.; MARON, D. J.; NAFTILAN, A. J.; WEINTRAUB, N.; FERMANN, G. J.; MCPHERSON, J.; MENON, S.; SAWYER, D. B.; STORROW, A. B. Soluble ST2 as a diagnostic and prognostic marker for acute heart failure syndromes. **The Open Biomarkers Journal**, v. 2012, n. 5, p. 1–8, 2012. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3578210&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 3 fev. 2016.

HORI, Y.; SANO, N.; KANAI, K.; HOSHI, F.; ITOH, N.; HIGUCHI, S.-I. Acute cardiac volume load-related changes in plasma atrial natriuretic peptide and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in healthy dogs. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 185, n. 3, p. 317–321, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.06.008>>. Acesso em: 1 mar. 2014.

JANUZZI, J. L. ST2 as a cardiovascular risk biomarker: From the bench to the bedside. **Journal of Cardiovascular Translational Research**, v. 6, n. 4, p. 493–500, 2013.

JANUZZI, J. L.; MEBAZAA, A.; DI SOMMA, S. ST2 and prognosis in acutely decompensated heart failure: The international ST2 consensus panel. **American Journal of Cardiology**, v. 115, n. 7, p. 26B–31B, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2015.01.037>>. Acesso em: 3 fev. 2016.

JANUZZI, J. L.; PEACOCK, W. F.; MAISEL, A. S.; CHAE, C. U.; JESSE, R. L.; BAGGISH, A. L.; O'DONOGHUE, M.; SAKHUJA, R.; CHEN, A. A.; VAN KIMMENADE, R. R. J.; LEWANDROWSKI, K. B.; LLOYD-JONES, D. M.; WU, A. H. B. Measurement of the interleukin family member ST2 in patients with acute dyspnea. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 50, n. 7, p. 607–613, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109707016993>>. Acesso em: 15 jun. 2014.

KIM, M.; JEONG, T.; HAN, S.; MIN, W.; KIM, J. Role of soluble ST2 as a prognostic marker in patients with acute heart failure and renal insufficiency. **Journal of Korean Medical Science**, p. 569–575, 2015. Disponível em: <http://jkms.org/search.php?where=asummary&id=30_5&code=0063JKMS&type=TYPE2>. Acesso em: 3 fev. 2016.

KITTLESON, M.; EYSTER, G.; KNOWLEN, G.; BARI OLIVIER, N.; ANDERSON, L. Myocardial function in small dogs with chronic mitral regurgitation and severe congestive heart failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 15, n. 184, p. 455–9, 1984.

KVART, C.; HA, J.; PEDERSEN, H. D.; HANSSON, K.; ERIKSSON, A.; TIDHOLM, A.; BSENKO, K.; AHLGREN, E.; ILVES, M.; BJERKA, E.; GUNDLER, S.; LORD, P.; WEGELAND, G.; ADOLFSSON, E.; CORFITZEN, J. Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous valve disease and asymptomatic mitral regurgitation. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, p. 80–88, 2002.

KY, B.; FRENCH, B.; MCCLOSKEY, K.; RAME, J. E.; MCINTOSH, E.; SHAHI, P.; DRIES, D. L.; TANG, W. H. W.; WU, A. H. B.; FANG, J. C.; BOXER, R.; SWEITZER, N. K.; LEVY, W. C.; GOLDBERG, L. R.; JESSUP, M.; CAPPOLA, T. P. High-sensitivity ST2 for prediction of adverse outcomes in chronic heart failure.

Circulation: Heart Failure, v. 4, n. 2, p. 180–187, 2011.

LANGHORN, R.; WILLESEN, J. L. Cardiac Troponins in Dogs and Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, p. 36–50, 2015.

LASSUS, J.; GAYAT, E.; MUELLER, C.; PEACOCK, W. F.; SPINAR, J.; HARJOLA, V. P.; VAN KIMMENADE, R.; PATHAK, A.; MUELLER, T.; DISOMMA, S.; METRA, M.; PASCUAL-FIGAL, D.; LARIBI, S.; LOGEART, D.; NOUIRA, S.; SATO, N.; POTOCKI, M.; PARENICA, J.; COLLET, C.; COHEN-SOLAL, A.; JANUZZI, J. L.; MEBAZAA, A. Incremental value of biomarkers to clinical variables for mortality prediction in acutely decompensated heart failure: The Multinational Observational Cohort on Acute Heart Failure (MOCA) study. **International Journal of Cardiology**, v. 168, n. 3, p. 2186–2194, 2013. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.01.228>>. Acesso em: 15 jun. 2015.

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. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 1, p. 153–159, 2010.

MAISEL, A. S.; RICHARDS, A. M.; PASCUAL-FIGAL, D.; MUELLER, C. Serial ST2 testing in hospitalized patients with acute heart failure. **The American Journal of Cardiology**, v. 115, n. 7, p. 32B–37B, 2015. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002914915001216>>. Acesso em: 3 fev. 2016.

MANZANO-FERNÁNDEZ, S.; MUELLER, T.; PASCUAL-FIGAL, D.; TRUONG, Q. a.; JANUZZI, J. L. Usefulness of soluble concentrations of interleukin family member ST2 as predictor of mortality in patients with acutely decompensated heart failure relative to left ventricular ejection fraction. **American Journal of Cardiology**, v. 107, n. 2, p. 259–267, 2011. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2010.09.011>>. Acesso em: 15 jun. 2015.

MAY KHAN, A.; KY, B. Defining the role of ST2: A multimarker approach? **Journal of Cardiac Failure**, v. 18, n. 4, p. 311–312, 2012. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.cardfail.2012.02.008>>. Acesso em: 1 jun. 2013.

MCGINLEY, J. C.; BERRETTA, R. M.; CHAUDHARY, K.; ROSSMAN, E.; BRATINOV, G. D.; GAUGHAN, J. P.; HOUSER, S.; MARGULIES, K. B. Impaired contractile reserve in severe mitral valve regurgitation with a preserved ejection fraction. **European Journal of Heart Failure: journal of the Working Group on Heart Failure of the European Society of Cardiology**, v. 9, n. 9, p. 857–864, 2007.

MORROW, D. A.; DE LEMOS, J. A. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. **Circulation**, v. 115, n. 8, p. 949–952, 2007.

NOSZCZYK-NOWAK, A. NT-pro-BNP and troponin I as predictors of mortality in dogs with heart failure. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 14, n. 4, p. 551–556, 2012.

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

OYAMA, M. A. Neurohormonal activation in canine degenerative mitral valve disease : implications on pathophysiology. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. 1, p. 3–11, 2009.

OYAMA, M. A. Using cardiac biomarkers in veterinary practice. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 43, n. 6, p. 1261–1272, 2013.

PASCUAL-FIGAL, D. A.; ORDOÑEZ-LLANOS, J.; TORNEL, P. L.; VÁZQUEZ, R.; PUIG, T.; VALDÉS, M.; CINCA, J.; DE LUNA, A. B.; BAYES-GENIS, A. Soluble ST2 for predicting sudden cardiac death in patients with chronic heart failure and left ventricular systolic dysfunction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 54, n. 23, p. 2174–2179, 2009.

PROSEK, R.; SISSON, D. D.; OYAMA, M. A.; SOLTER, P. F. Distinguishing cardiac and noncardiac dyspnea in 48 dogs using plasma atrial natriuretic factor, B-type natriuretic factor, endothelin, and cardiac troponin-I. **Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 2, p. 238–242, 2007.

REHMAN, S. U.; MUELLER, T.; JANUZZI, J. L. Characteristics of the novel interleukin family biomarker ST2 in patients with acute heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 52, n. 18, p. 1458–1465, 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109708027204>>. Acesso em: 15 mar. 2014.

REYNOLDS, C. A.; BROWN, D. C.; RUSH, J. E.; FOX, P. R.; NGUYENBA, T. P.; LEHMKUHL, L. B.; GORDON, S. G.; KELLIHAN, H. B.; STEPIEN, R. L.; LEFBOM, B. K.; KATE MEIER, C.; OYAMA, M. A. Prediction of first onset of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease: The PREDICT cohort study. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 193–202, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jvc.2012.01.008>>. Acesso em: 15 mar. 2014.

REYNOLDS, C.; OYAMA, M. Biomarkers in the diagnosis of canine heart disease. **Veterinary Focus**, v. 18, n. 3, p. 2–6, 2008. Disponível em: <<http://xa.yimg.com/kq/groups/23130192/186824925/name/biomarkers+Canine+heart+disease.pdf>>. Acesso em: 3 jun. 2015.

RUAUX, C.; SCOLLAN, K.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, J. M.; SISSON, D. D. Biologic variability in NT-proBNP and cardiac troponin-I in healthy dogs and dogs with mitral valve degeneration. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 44, n. 3, p. 420–430, 2015.

SABATINE, M. S.; MORROW, D. A.; HIGGINS, L. J.; MACGILLIVRAY, C.; GUO, W.; BODE, C.; RIFAI, N.; CANNON, C. P.; GERSZTEN, R. E.; LEE, R. T. Complementary roles for biomarkers of biomechanical peptide in patients with ST-

elevation myocardial infarction. **Circulation**, p. 1936–1945, 2008. Disponível em: <<http://circ.ahajournals.org/>>. Acesso em: 26 jan. 2016.

SANADA, S.; HAKUNO, D.; HIGGINS, L. J.; SCHREITER, E. R.; MCKENZIE, A. N. J.; LEE, R. T. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 6, p. 1538–49, 2007. Disponível em: <<http://www.jci.org/dx.doi.org/10.1172/JCI30634>>. Acesso em: 19 jan. 2016.

SANTHANAKRISHNAN, R.; CHONG, J. P. C.; NG, T. P.; LING, L. H.; SIM, D.; TOH G. LEONG, K.; SHUAN D. YEO, P.; ONG, H. Y.; JAUFEEERALLY, F.; WONG, R.; CHAI, P.; LOW, A. F.; RICHARDS, A. M.; LAM, C. S. P. Growth differentiation factor 15, ST2, high-sensitivity troponin T, and N-terminal pro brain natriuretic peptide in heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction. **European Journal of Heart Failure**, v. 14, n. 12, p. 1338–1347, 2012.

SANTOS, C. **Estatística descritiva - manual de auto-aprendizagem**. Lisboa: Edições Síbaló, 2007.

SCHMITTER, D.; COTTER, G.; VOORS, A. A. Clinical use of novel biomarkers in heart failure: towards personalized medicine. **Heart Failure Reviews**, p. 1–13, 2013.

SCHÖBER, K. E.; HART, T. M.; STERN, J. A.; LI, X.; SAMII, V. F.; ZEKAS, L. J.; SCANSEN, B. A.; BONAGURA, J. D. Detection of Congestive Heart Failure in Dogs by Doppler Echocardiography. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 6, p. 1358–1368, 2010.

SHAH, K. B.; KOP, W. J.; CHRISTENSON, R. H.; DIERCKS, D. B.; HENDERSON, S.; HANSON, K.; LI, S. Y.; DEFILIPPI, C. R. Prognostic utility of ST2 in patients with acute dyspnea and preserved left ventricular ejection fraction. **Clinical Chemistry**, v. 57, n. 6, p. 874–882, 2011.

SHAH, R. V.; JANUZZI, J. L. ST2: A novel remodeling biomarker in acute and chronic heart failure. **Current Heart Failure Reports**, v. 7, n. 1, p. 9–14, 2010.

SJÖSTRAND, K.; WESS, G.; LJUNGVALL, I.; HÄGGSTRÖM, J.; MERVEILLE, A. C.; WIBERG, M.; GOUNI, V.; LUNDGREN, J.; WILLESEN; HANAS, S.; LEQUARRÉ, A. S.; MEJER SØRENSEN, L.; WOLF, J.; TIRET, L.; KIERCZAK, M.; FORSBERG, S.; MCENTEE, K.; BATTAILLE, G.; SEPPÄLÄ, E.; LINDBLAD-TOH, K.; GEORGES, M.; LOHI, H.; CHETBOUL, V.; FREDHOLM, M.; HÖGLUND, K. Breed differences in natriuretic peptides in healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, p. 451–457, 2014.

SPRATT, D. P.; MELLANBY, R. J.; DRURY, N.; ARCHER, J. Cardiac troponin I: evaluation I of a biomarker for the diagnosis of heart disease in the dog. **The Journal of small animal practice**, v. 46, n. 3, p. 139–145, 2005.

TARNOW, I.; OLSEN, L. H.; KVART, C.; HÖGLUND, K.; MOESGAARD, S. G.; KAMSTRUP, T. S.; PEDERSEN, H. D.; HÄGGSTRÖM, J. Predictive value of natriuretic peptides in dogs with mitral valve disease. **The Veterinary Journal**, v. 180, n. 2, p. 195–201, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6WXN-4T41PMN-1/2/1c047ca993b1a438d41a0f70d484d37d>>http://ac.els-

cdn.com/S109002330800004X/1-s2.0-S109002330800004X-main.pdf?_tid=08bfb73e-450a-11e2-bdf8-00000aacb35e&acdnt=1355392197_9a6e05b8db12ffcd104ca4f5>. Acesso em: 3 set. 2014.

TAUB, P. R.; GABBAI-SALDATE, P.; MAISEL, A. Biomarkers of heart failure. **Congestive Heart Failure**, v. 16, p. 19–24, 2010. Supplement, 1

THOMAS, W. P.; GABER, C. E.; JACOBS, G. J.; KAPLAN, P. M.; LOMBARD, C. W.; MOISE, N. S.; MOSES, B. L. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. Echocardiography Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine. **Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 7, n. 4, p. 247–252, 1993.

TILLEY, L.; GOODWIN, J. **Manual of canine and feline cardiology**. 3rd. ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 2001.

VAN KIMMENADE, R. R. J.; JANUZZI, J. L. The evolution of the natriuretic peptides - Current applications in human and animal medicine. **Journal of Veterinary Cardiology: the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology**, v. 11, p. S9–S21, 2009. Supplement, 1. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jvc.2009.01.001>>. Acesso em: 15 jun. 2014.

WEINBERG, E. O.; SHIMPO, M.; DE KEULENAER, G. W.; MACGILLIVRAY, C.; TOMINAGA, S.; SOLOMON, S. D.; ROULEAU, J. L.; LEE, R. T. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. **Circulation**, v. 106, n. 23, p. 2961–2966, 2002.

WEINBERG, E. O.; SHIMPO, M.; HURWITZ, S.; TOMINAGA, S. I.; ROULEAU, J. L.; LEE, R. T. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. **Circulation**, v. 107, n. 5, p. 721–726, 2003.

WESSELOWSKI, S.; BORGARELLI, M.; BELLO, N. M.; ABBOTT, J. Discrepancies in Identification of Left Atrial Enlargement Using Left Atrial Volume versus Left Atrial-to-Aortic Root Ratio in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, p. 1527–1533, 2014.

WU, A. H. B.; WIAN, F.; JAFFE, A. Biological variation of galectin-3 and soluble ST2 for chronic heart failure: Implication on interpretation of test results. **American Heart Journal**, v. 165, n. 6, p. 995–999, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ahj.2013.02.029>>. Acesso em: 3 fev. 2016.

ZALDÍVAR-LÓPEZ, S.; MARÍN, L. M.; IAZBIK, M. .; WESTENDORF-STINGLE, N.; HENSLEY, S.; COUTO, C. G. Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 40, n. 4, p. 1–19, 2011.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Dados dos cães selecionados para o estudo segundo os dados de identificação: nome, número do prontuário, definição racial, idade, sexo, alocação conforme estágio da DVCM e peso, Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

(continua)

ID	RAÇA	IDADE	SEXO	ESTÁGIO DVCM	PESO (Kg)
1	SRD	6	M	B2	9,8
2	Shih tzu	10	M	B1	6,8
3	SRD	11	M	C	6,2
4	Poodle	12	M	C	2,9
5	Poodle	14	M	B2	8,2
7	Pinscher	8	M	B2	3,6
8	Poodle	8	F	A	5
9	SRD	6	M	B2	6,5
10	Lhasa apso	11	M	B1	4,9
11	Beagle	8	F	B1	13,8
12	Poodle	14	F	B2	5
13	Maltes	6	M	B1	4,9
14	Yorkshire	6	F	A	5,2
15	Pinscher	11	M	C	3,7
16	SRD	6	M	A	14,2
17	Shih tzu	11	M	B1	7
18	SRD	14	M	C	6,9
19	Poodle	9	F	A	4,3
20	Poodle	8	F	B1	4,6
21	Yorkshire	7	F	A	4,9
22	Poodle	4	F	A	6,3
23	SRD	12	F	C	13,3
24	Poodle	11	M	B2	4,6
25	Poodle	4	M	A	3,9
26	Pequinês	18	M	C	4
27	SRD	5	M	A	6,1
28	SRD	5	F	A	3,9
29	SRD	5	M	A	3,95
30	Pinscher	6	M	B1	4,4
33	Poodle	8	M	B2	4,1
34	SRD	9	M	C	9
35	SRD	12	F	C	9,3
36	Shih tzu	3	F	A	8,9
38	SRD	7	F	A	19,8
39	SRD	8	F	A	12,5
40	SRD	7	F	A	12,9
41	SRD	6	F	A	14,2
42	Shih tzu	10	F	C	4,6
43	SRD	7	F	A	15,9
44	SRD	7	M	A	11,2
45	SRD	7	F	A	13
46	SRD	8	F	A	13,7
48	Poodle	9	F	B1	5,8
49	Dachshund	13	M	C	7,3

50	SRD	5	M	A	17
51	SRD	8	F	A	12,3
53	SRD	7	F	A	10,9
54	Poodle	7	M	A	10,6
55	Lhasa apso	10	M	B1	10,2
56	Poodle	14	F	C	2,8
57	Dachshund	9	M	B1	10,8
58	Poodle	10	M	C	6,3
59	SRD	12	M	B2	5,7
60	Carnie terrier	2	M	A	8,2
61	Carnie terrier	2	M	A	10,5
62	Maltês	12	M	D	3,3
63	Dachshund	12	M	A	10,7
64	Poodle	14	F	B2	4,9
65	Fox Paulistinha	10	M	D	3,5
67	Maltês	13	M	D	4
68	Yorkshire	12	F	B1	4,2
69	Lhasa apso	11	M	C	7,6
70	Whippet	6	F	A	7,6
71	Whippet	13	M	C	11,1
72	Whippet	10	M	B1	11,6
73	SRD	6	F	A	6
74	SRD	9	F	B1	9,3
75	Poodle	11	F	A	9,1
76	Poodle	11	M	B1	8,4
77	Dachshund	8	F	A	8,3
78	Yorkshire	6	F	A	2,8
79	Lhasa apso	8	F	A	4,8
80	Poodle	12	M	D	11,2
81	Poodle	9	F	B1	7,2
82	Maltes	9	M	A	5
83	Poodle	12	M	B1	11,4
85	Yorkshire	10	M	B1	3,5
86	Beagle	6	M	A	14,6
87	SRD	10	F	A	18,1
88	Maltês	13	F	B1	3
89	Yorkshire	6	M	A	2,5
90	Poodle	17	M	B1	3,4
91	SRD	11	F	B1	14,7
92	Cocker	11	M	A	15
93	Pinscher	11	F	B1	2,2
94	SRD	8	F	B1	9,2
95	SRD	6	F	A	5
96	Lhasa apso	8	F	A	7,3
97	Lhasa apso	9	F	B1	6,4
98	SRD	6	M	B2	10,6
100	Yorkshire	6	M	A	3,5
101	SRD	8	M	A	15
102	Schnauzer	6	F	A	4,5
103	Dachshund	12	F	B2	8,8
104	Poodle	11	M	D	3,9
105	Yorkshire	12	F	B1	4,1

106	SRD	13	F	D	10,3
107	Dachshund	14	M	D	11,3
108	Shih tzu	9	M	D	5,4
109	Shih tzu	11	M	C	4,2
110	Sptiz alemão	8	M	B2	4
113	Poodle	10	M	C	5
114	Pinscher	12	F	B1	3,4
115	Poodle	11	F	B2	3,2
116	Poodle	12	M	C	3,6
117	SRD	8	F	A	9,5
118	SRD	10	M	B1	13,5
119	Poodle	10	F	B1	6,5
120	Bulldog francês	7	M	A	16,1
121	Schnauzer	6	M	B1	12,3
122	SRD	7	F	A	13,6
123	Poodle	8	F	B2	6,3
124	Poodle	13	M	B2	3,6
125	Fox Paulistinha	10	M	B2	8,8
126	SRD	6	F	A	17,8
127	SRD	12	M	A	9,5
128	SRD	11	F	A	11,8
130	SRD	12	F	C	14,1
131	Poodle	12	M	C	7,7
132	SRD	11	F	B2	7,6
133	Yorkshire	12	F	A	1,9
134	Maltês	14	F	B2	3,4
135	Dachshund	14	M	D	8,3
136	Pinscher	6	M	A	3,4
137	Poodle	13	M	B2	9,7
138	Poodle	10	M	B2	7
139	SRD	12	M	D	4,9
140	Dachshund	14	M	D	6,8
141	SRD	6	F	A	15,9
142	SRD	7	F	A	8,2
143	Dachshund	6	F	A	8,8
144	Poodle	10	M	C	9,6
145	SRD	6	F	A	3,1
146	Bulldog francês	8	M	A	16
147	Spaniel japones	5	M	A	5,7
148	West highland white terrier	5	F	A	5,4
149	Lhasa apso	5	F	A	5,2
150	Lhasa apso	5	F	A	6,3
151	Lhasa apso	6	F	A	4,1

APÊNDICE B - Dados dos cães selecionados para o estudo segundo os dados da ausculta cardiopulmonar, pressão arterial sistólica (PAS), VHS e ECG, Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

ID	AUSCULTA CARDIOPULMONAR	PAS	VHS	ECG
1	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, II/VI em tricúspide, campos pulmonares sem alterações	125	11,5	RS
2	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	129	10,2	RS
3	RCI; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral e III/VI em tricúspide; campos pulmonares sem alterações	95	11	RS
4	RCI; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral com repercussão; campos pulmonares sem alterações	91	10,8	RS
5	RCR; sopro sistólico grau II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	125	9,6	RS
7	RCI; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral com repercussão; campos pulmonares sem alterações	...	10	RS
8	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	180	9,5	RS
9	RCI; BRNF; sopro sistólico grau II-III/VI em foco mitral; campos pulmonares sem alterações	138	10	RS
10	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	125	9,5	RS
11	RCR; BRNF, sopro sistólico grau I-II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	161	10,8	TS
12	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	151	9,2	RS
13	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	141	9	AS
14	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	127	9,5	RS
15	RCR; sopro sistólico grau V/VI em foco mitral e III/VI T, crepitação pulmonar discreta	119	11,5	RS
16	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	107	9,5	RS
17	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	163	10	RS
18	RCR; sopro sistólico grau V/VI em foco mitral com propagação para demais focos, campos pulmonares sem alterações	107	11,5	RS
19	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	168	...	RS
20	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	175	9,8	RS
21	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	143	9,8	AS e MM
22	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	136	10,2	RS
23	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral com repercussão, campos pulmonares sem alterações	149	11,5	RS
24	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	137	10,8	RS
25	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	158	9,8	AS
26	RCR, sopro sistólico grau V/VI em mitral com propagação para demais focos, campos pulmonares sem alterações	144	11	AS+APCs isolados
27	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	161	9,6	AS

28	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	149	9,2	RS
29	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	186	9,8	AS
30	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	135	10,5	AS
33	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral e tricúspide, campos pulmonares sem alterações	122	10	AS
34	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral e grau III/VI tricúspide, campos pulmonares sem alterações	104	12,2	RS
35	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	115	10	RS
36	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	138	10	RS
38	RCR, BNRNF s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	193	10	AS e MM
39	RCR, BNRNF s/ sopro. Campos pulmonares sem alterações	137	10,4	AS
40	RCR, BNRNF s/ sopro. Campos pulmonares sem alterações	151	10,4	AS
41	RCR, BNRNF s/ sopro. Campos pulmonares sem alterações	128	9,8	AS e MM
42	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, propagação em campos pulmonares. Campos pulmonares sem alterações	78	11,5	RS
43	RCR, BNRNF s/ sopro. Campos pulmonares sem alterações	157	9,5	AS
44	RCR, BNRNF s/ sopro. Campos pulmonares sem alterações	130	10,3	RS
45	RCR, BNRNF s/ sopro. Campos pulmonares sem alterações	120	10,4	RS
46	RCR, BNRNF s/ sopro. Campos pulmonares sem alterações	...	10,8	AS
48	RCR; BRNF, sopro sistólico grau II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	147	10,8	RS
49	RCR; sopro sistólico grau V/VI em foco mitral com propagação, sem alterações em campos pulmonares	130	11,8	TS
50	RCR, BNRNF s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	126	9,8	AS e MM
51	RCR, BNRNF s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	168	9	RS
53	RCR, BNRNF s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	136	9,5	AS
54	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	157	10,5	RS
55	RCR; BRNF, sopro sistólico grau II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	128	9,5	AS
56	RCR; sopro sistólico grau V/VI em foco mitral, sem alterações em campos pulmonares	113	13,5	RS
57	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	163	10,2	AS
58	RCR; sopro sistólico grau V/VI em foco mitral com propagação para os demais focos, aumento de murmúrio vesicular	113	14	RS+APCs isolados
59	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral com propagação para o foco tricúspide. Sons pulmonares sem alterações	156	10,8	RS
60	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	103	10,2	RS
61	RCR; BRNF, s/ sopro, campos pulmonares sem alterações	126	9,2	AS e MM
62	RCR; Sopro sistólico grau V/VI em foco mitral com propagação para demais focos, campos pulmonares sem alterações.	148	10	AS e MM
63	RCR, BNRNF s/ sopro. Sibilos à inspiração.	156	11	AS
64	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	146	11	AS
65	RCR; sopro sistólico VI/VI em M com propagação para demais focos; murmúrio vesicular aumentado	108	12,2	RS

67	RCR; Sopro sistólico grau V/VI em foco mitral com propagação para demais focos, murmúrio vesicular aumentado.	170	13,7	AS
68	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	115	10,20	AS
69	RCR; sopro sistólico III/VI em M e T, murmúrio vesicular aumentado	121	12	RS
70	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	127	10,5	RS
71	RCR; sopro sistólico grau V/VI foco mitral, campos pulmonares sem alterações	124	11,6	AS
72	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	167	9,8	TS
73	RCRI; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	145	10	AS
74	RCR; BRNF, sopro sistólico grau I/VI foco mitral, campos pulmonares sem alterações	196	9,5	AS
75	RCRI; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	150	10	RS
76	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	131	10,8	AS
77	RCRI; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	115	9,5	AS
78	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	113	9,8	RS
79	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	155	9,8	AS
80	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, crepitação em lobos pulmonares caudais bilateral	132	13	RS
81	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	121	10,2	RS
82	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	135	10,5	RS
83	RCR; BRNF, sopro sistólico grau II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	152	10,5	RS
85	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	144	10,5	RS
86	RCR; BRNF, sopro sistólico grau II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	162	10,8	RS
87	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	135	9,2	AS
88	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	155	9,5	RS
89	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	129	9,6	AS e MM
90	RCR; BRNF, sopro sistólico grau II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	118	10	RS
91	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, campos pulmonares com murmúrio vesicular sem alterações	137	10,2	RS
92	RCR, BRNF sem sopro, campos pulmonares sem alteração.	167	11	RS
93	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	139	9,5	RS
94	RCR; BRNF, sopro sistólico grau I/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	158	...	RS
95	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	107	9,3	RS
96	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	164	9	RS
97	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	175	9	AS e MM
98	RCR, sopro grau IV/VI em foco mitral e II/VI em foco tricúspide com repercussão para demais focos. Campos pulmonares sem alteração.	120	11,8	RS
100	RCR; BRNF, sopro sistólico grau II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	114	9	TS
101	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	163	10	RS

102	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	128	10	RS
103	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações.	148	10,8	RS
104	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral e grau III/VI tricúspide, campos pulmonares sem alterações	108	11,5	TS
105	RCR, sopro sistólico grau II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações.	156	9,8	TS
106	RCR, sopro sistólico grau V/VI em M com repercussão em demais focos, campos pulmonares sem alteração.	95	13	TS
107	RCR, sopro sistólico grau V/VI em M com repercussão em demais focos, campos pulmonares sem alteração.	131	11,5	RS
108	RCR, sopro sistólico grau V/VI em M com repercussão em demais focos e campos pulmonares, campos pulmonares sem alteração.	96	12,2	RS
109	RCR, sopro sistólico grau V/VI em foco mitral, IV/VI em tricúspide com propagação em campos pulmonares, campos pulmonares sem alteração.	160	12	RS
110	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	101	14	AS e MM
113	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral com propagação para tricúspide, campos pulmonares sem alterações	133	12	RS
114	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares com murmúrios vesiculares aumentados.	173	10,5	RS
115	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral e grau III/VI tricúspide com repercussão para os demais focos e campos pulmonares, campos pulmonares sem alterações.	106	11	RS
116	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral com propagação, campos pulmonares com murmúrio vesicular aumentado	120	13,8	RS
117	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	145	9,3	RS
118	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	147	10,2	RS
119	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	142	9,2	RS
120	RCR; BRNF, sopro sistólico grau I/VI em foco mitral, campos pulmonares com aumento de murmúrio vesicular	159	11,5	AS
121	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	128	11,8	RS
122	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	118	9,1	RS
123	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral e grau III/VI tricúspide, campos pulmonares sem alterações.	134	11	AS e MM
124	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral com propagação para demais focos, campos pulmonares sem alterações	122	10,7	AS e MM
125	RCI, sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	124	11,2	AS
126	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	168	10,3	RS
127	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	135	9,5	TS
128	RCR; BRNF, sopro sistólico grau II/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	225	10,5	RS
130	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	118	14	RS
131	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	119	12,1	RS
132	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral com propagação e grau II/VI tricúspide, campos pulmonares sem alterações.	178	11,2	RS

133	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	116	9,5	RS
134	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral e grau III/VI tricúspide, campos pulmonares sem alterações.	126	10,5	AS
135	RCI, sopro sistólico grau V/VI em M e T com repercussão em demais focos, campos pulmonares sem alteração.	125	12	RS
136	RCR; BRNF, sopro sistólico grau I/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	157	10,5	TS
137	RCR; sopro sistólico III/VI em M, sem alterações em campos pulmonares	214	11,8	RS
138	RCR; sopro sistólico grau III/VI em foco mitral, campos pulmonares sem alterações	140	11	RS
139	RCR; sopro sistólico grau V/VI em foco mitral, V/VI em tricúspide com propagação em campos pulmonares, campos pulmonares sem alteração.	116	13	AS e MM
140	RCR; sopro sistólico grau V/VI em foco mitral, V/VI em tricúspide com propagação em campos pulmonares. Murmúrio vesicular aumentado.	114	14	RS
141	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	110	9,2	RS
142	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	188	9,6	AS
143	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	159	9,5	AS e MM
144	RCR; sopro sistólico grau IV/VI em foco mitral com propagação para demais focos, campos pulmonares sem alterações.	141	13,2	RS
145	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	115	9,5	RS
146	RCRI; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	160	10,3	AS
147	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	119	9,5	AS
148	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	133	10,0 0	AS
149	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	141	8,8	RS
150	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	116	9	RS
151	RCR; BRNF, sem sopro, campos pulmonares sem alterações	169	9,2	RS

Nota: RCR: ritmo cardíaco regular; RCI: ritmo cardíaco irregular; BRNF: bulhas rítmicas normofonéticas; ... dado inexistente (PAS - cão extremamente agitado não permitiu a contensão física para aferição; VHS - incompatibilidade de agenda do responsável com o agendamento do Serviço de Imagem, FMVZ, USP).

APÊNDICE C - Valores das variáveis ecocardiográficas, adquiridas nos modos bidimensional e M, avaliadas ao primeiro momento de avaliação (dia 0), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

ID	AE	Ao	AE/Ao	FC	SIVD	SIVS	DIVED	DIVES	FE	FS
1	2,64	1,25	2,11	113	7,59	9,48	38,41	23,23	84	40
2	1,66	1,27	1,31	87	7,59	10,43	24,18	14,7	70	39
3	2,06	1,16	1,77	144	5,82	7,76	31,42	17,84	85	43
4	2,21	0,99	2,22	110	6,21	12,03	29,87	13,97	84	53
5	2,38	1,42	1,67	109	6,02	8,03	30,51	16,86	84	45
7	1,55	1,04	1,49	107	6,57	7,88	24,31	12,48	77	49
8	1,39	1,02	1,37	120	6,13	9,93	20,73	11,39	85	45
9	2,2	1,2	1,82	77	6,24	8,87	23,98	13,47	93	44
10	1,6	1,11	1,44	109	4,27	7,76	24,44	11,64	75	52
11	2,26	1,61	1,4	98	8,03	10,84	32,12	17,26	83	46
12	1,94	1,1	1,76	191	5,69	10,9	21,33	10,19	82	52
13	1,39	1,17	1,18	106	4,93	8,21	24,31	13,47	74	45
14	1,19	1,07	1,11	132	5,58	8,21	20,69	13,8	63	33
15	2,09	1,02	2,04	175	5,58	5,91	17,41	10,51	81	40
16	2,07	1,76	1,18	113	7,23	10,84	30,51	20,47	88	33
17	1,87	1,29	1,45	97	7,23	10,44	30,91	16,06	83	48
18	2,78	1,2	2,33	134	6,42	14,05	35,33	15,26	88	57
19	1,28	1,33	0,94	112	6,9	8,43	20,18	13,28	66	34
20	1,54	1,03	1,49	98	5,55	90,5	23,36	11,68	83	50
21	1,64	1,18	1,39	118	6,13	9,93	22,77	12,55	80	45
22	1,5	1,39	1,08	132	6,24	10,51	20,04	8,87	88	56
23	3,15	1,46	2,15	88	7,23	12,26	41,17	21,9	79	47
24	1,68	1,14	1,48	109	5,82	10,86	24,44	10,47	89	57
25	1,06	1,05	1,01	137	4,09	6,72	18,98	9,93	82	48
26	2,48	1,18	2,11	172	5,43	12,41	32,2	15,52	84	52
27	1,46	1,31	1,12	142	5,91	10,18	24,31	12,15	83	50
28	1,23	1,22	1,01	126	5,55	8,47	22,19	9,93	88	55
29	1,31	1,23	1,07	75	4,67	8,76	26,57	14,6	78	45
30	7,48	1,01	0,73	139	5,55	9,34	23,07	14,01	72	39
33	2,25	1,22	1,84	97	4,27	9,85	26,93	10,51	91	61
34	4,11	1,26	3,24	132	7,23	19,27	43,76	14,45	94	67
35	2,23	1,38	1,62	85	6,9	8,21	28,25	14,78	81	48
36	1,85	1,37	1,34	116	5,47	11,68	27,01	14,6	79	46
38	1,9	1,27	1,5	97	9,23	18,07	39,34	24,09	70	39
39	1,79	1,76	1,02	74	5,84	9,49	33,58	24,45	54	27
40	1,9	1,47	1,29	115	6,82	11,24	28,91	14,85	82	49
41	1,97	1,47	1,34	68	7,59	13,28	30,82	16,59	79	46
42	2,48	1,16	2,14	112	5,82	9,7	29,09	15,91	78	45
43	2,05	1,73	1,19	124	9,48	12,8	25,13	15,65	70	38
44	1,94	1,46	1,32	110	8,83	11,24	29,71	19,67	64	34
45	2,14	1,47	1,45	124	6,82	10,44	30,11	20,47	62	32
46	2	1,79	1,11	109	8,83	12,04	33,72	24,09	56	29
48	1,83	1,36	1,34	126	8,62	10,34	20,26	11,64	76	43
49	3,47	1,64	2,12	132	5,62	8,43	46,57	27,3	72	41

50	2,05	1,72	1,19	71	6,57	9,2	35,91	24,96	59	30
51	1,27	1,25	1,01	107	6,42	12,45	27,3	14,85	79	46
53	1,71	1,53	1,12	101	6,82	12,04	36,13	22,88	67	37
54	1,67	1,64	1,02	96	8,03	9,23	30,91	20,88	62	32
55	1,68	1,27	1,32	98	7,23	11,64	27,7	16,46	73	41
56	3,65	10,92	3,35	157	4,48	9,66	34,83	21,38	70	39
57	2,47	1,96	1,26	116	7,59	10,91	28,92	17,07	74	41
58	3,6	1,16	3,1	119	5,22	10,84	43,76	24,49	76	44
59	1,67	1,56	1,07	91	8,15	11,64	26,38	10,86	90	59
60	1,52	1,27	1,2	197	8,03	12,85	22,88	15,66	62	32
61	1,49	1,23	1,21	82	7,59	9,96	24,66	15,17	71	38
62	1,81	1,09	1,65	128	3,79	6,21	23,79	13,45	77	43
63	2,27	1,54	1,47	69	8,43	10,64	33,52	20,27	71	40
64	2,12	1,02	2,07	80	4,66	7,37	25,6	13,58	80	47
65	2	1,17	1,72	175	3,45	9,91	36,21	21,98	71	39
67	3,14	1,3	2,41	103	6,16	9,48	34,61	19,91	75	42
68	1,07	0,87	1,23	67	5,26	9,05	20,44	12,85	70	37
69	2,7	1,47	1,84	246	6,02	8,83	40,15	22,48	76	44
70	1,96	1,54	1,27	114	5,58	7,55	27,59	17,41	69	37
71	4,22	1,84	2,29	119	5,26	7,01	44,67	26,72	71	40
72	2,01	1,96	1,03	235	6,64	11,85	27,5	14,7	80	47
73	1,43	1,41	1,01	76	6,24	9,53	25,29	15,11	73	40
74	1,38	1,38	1	101	8,43	9,64	24,49	16,46	64	33
75	1,4	1,21	1,15	119	7,63	13,25	26,09	12,04	86	54
76	2,06	1,59	1,3	77	8,62	10,78	31,03	19,4	69	37
77	1,85	1,63	1,14	130	0,85	10,86	25,22	12,8	83	49
78	1,56	0,97	1,61	113	4,34	7,41	19,16	9,71	83	49
79	1,71	1,42	1,21	110	6,57	8,87	19,05	9,2	85	52
80	3,58	1,5	2,38	146	7,28	10,65	42,59	23,53	76	45
81	1,64	1,32	1,24	64	7,88	11,17	29,89	14,12	85	53
82	1,34	1,19	1,12	98	5,55	7,59	21,61	12,55	76	42
83	1,9	1,51	1,26	161	8,53	10,91	26,55	13,51	82	49
85	1,56	1,16	1,34	87	4,6	9,2	19,16	10,73	78	44
86	2,1	1,91	1,1	70	6,82	10,04	33,72	24,49	54	27
87	2,07	1,49	1,39	90	8,79	9,31	31,03	19,66	68	37
88	1,49	1,18	1,26	155	5,17	6,98	19,4	11,12	77	43
89	1,44	0,89	1,62	73	4,6	7,88	20,36	12,26	73	40
90	1,53	1,17	1,31	81	5,73	8,15	16,9	11,16	66	34
91	2,14	2,06	1,04	123	8,41	12,33	34,18	18,49	78	46
92	2,34	1,97	1,19	137	10,34	12,5	32,76	21,12	66	36
93	1,15	0,98	1,17	85	5,17	6,98	18,1	9,05	84	50
94	2,18	1,56	1,4	164	6,21	10,47	24,05	13,97	75	42
95	1,31	1,41	0,93	93	6,21	8,62	23,45	11,72	83	50
96	1,86	1,56	1,19	108	6,4	10,67	23,28	11,44	84	51
97	1,77	1,38	1,28	133	6,9	11,72	22,07	11,38	82	48
98	3,82	1,85	2,06	97	5,69	12,8	43,15	24,18	75	44
100	1,2	1,27	0,94	61	4,22	7,24	23,23	13,88	73	40
101	2,09	1,77	1,18	70	9,48	12,8	33,66	23,23	60	31
102	1,61	1,13	1,43	98	5,82	7,37	23,66	14,74	70	38
103	2,73	1,7	1,61	134	7,11	12,33	36,51	19,44	79	47

104	2,69	1,04	2,58	167	5,82	9,31	27,54	11,25	90	59
105	1,57	1,23	1,27	160	4,85	7,66	22,99	12,77	78	44
106	3,63	1,74	2,08	146	5,27	12,12	49	27,4	75	44
107	4,27	1,55	2,75	103	6,21	12,41	49,66	26,38	78	47
108	3,08	1,7	1,81	119	6,15	9,61	4,2	18,06	88	57
109	2,49	1,01	2,45	123	4,66	9,7	32,59	13,58	89	58
110	3,07	1,1	2,77	78	5,43	9,7	29,09	15,13	81	48
113	3,25	1,28	2,53	127	6,55	14,14	32,41	15,17	85	53
114	1,4	1,12	1,24	120	4,98	6,64	20,67	13,28	68	36
115	2,01	0,89	2,26	129	4,26	8,51	27,5	10,8	91	61
116	2,99	1,15	2,6	122	5,82	12,03	33,75	19,78	73	41
117	1,69	1,66	1,02	164	6,9	11,17	25,29	11,5	87	55
118	2,04	2,03	1	113	8,03	12,45	36,13	22,68	68	37
119	1,49	1,11	1,33	90	5,26	8,54	25,62	15,44	72	40
120	2,32	1,85	1,25	49	7,33	12,5	36,21	21,98	71	39
121	2,05	1,42	1,45	68	5,05	7,07	36,7	25,92	57	29
122	1,73	1,44	1,2	166	9,01	29,87	36,03	15,65	88	57
123	2,45	0,97	2,52	113	5,43	9,7	35,3	21,34	71	40
124	1,7	1,04	1,63	113	6,83	10,24	28,24	13,35	85	53
125	2,69	1,34	2	120	8,06	9,48	36,03	18,02	82	50
126	2,39	1,74	1,37	121	6,72	13,45	35,3	21,85	69	38
127	1,91	1,85	1,03	114	7,33	10,78	24,57	10,78	88	56
128	1,97	1,42	1,39	139	5,82	12,41	30,65	15,52	82	49
130	3,88	1,65	2,35	139	8,97	14,01	54,35	26,9	81	51
131	4,09	1,28	3,2	177	5,6	12,5	45,26	32,54	54	28
132	2,25	1,24	1,81	113	6,98	11,25	28,32	11,25	91	60
133	1,3	1,04	1,24	198	4,66	6,47	15,95	9,96	71	38
134	2,24	1,04	2,15	134	4,53	5,82	21,34	15,13	59	29
135	4,05	1,95	2,08	161	5,86	9,31	38,28	20,43	79	47
136	1,11	0,95	1,17	148	4,83	9,05	16,29	9,35	77	43
137	2,2	1,75	1,26	90	7,33	12,5	35,78	19,83	77	45
138	1,95	1,32	1,47	67	6,21	12,8	37,24	19,4	80	48
139	3,03	1,09	2,78	102	5,43	10,47	33,75	21,34	68	37
140	4,31	1,36	3,16	155	6,21	10,86	39,83	21,72	77	45
141	2,07	1,58	1,31	61	6,9	14,22	33,19	18,53	77	44
142	1,7	1,58	1,08	79	5,82	11,64	31,42	19,01	71	40
143	1,82	1,44	1,26	216	8,92	13,58	27,16	13,19	84	51
144	4,56	1,41	3,22	...	8,97	10,65	47,07	21,85	84	54
145	1,27	1,08	1,18	166	5,13	7,24	17,2	9,96	76	42
146	2,11	1,88	1,12	61	8,06	11,38	32,72	18,97	74	42
147	1,78	1,34	1,33	132	6,59	10,09	21,34	11,25	81	47
148	1,52	1,32	1,16	112	6,59	8,53	24,05	14,74	71	39
149	1,48	1,29	1,15	200	6,21	8,92	20,95	11,25	80	46
150	1,93	1,43	1,35	157	6,59	10,47	23,28	12,8	79	45
151	1,28	1,11	1,15	98	4,27	8,53	20,56	10,09	85	51

APÊNDICE D - Valores das variáveis ecocardiográficas, adquiridas nos modos bidimensional e M, avaliadas ao segundo momento de avaliação (dia 60), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

ID	AE	Ao	AE/Ao	FC	SIVD	SIVS	DIVED	DIVES	FE	FS
1A	3,09	1,18	2,62	123	6,21	9,31	41,9	24,83	76	41
2A	2,14	1,03	2,06	88	6,98	11,25	23,66	11,64	85	51
3A	1,99	1,16	1,72	139	7,37	8,53	30,65	19,01	77	38
4A	2,39	1,1	2,17	104	5,86	13,1	28,97	13,79	82	52
7A	1,56	0,94	1,65	97	5,17	8,62	26,55	13,1	92	51
9A	1,84	1,13	1,63	104	7,56	10,47	22,89	8,92	79	61
10A	1,72	1,22	1,41	112	4,27	9,31	24,05	8,92	86	63
11A	2,3	1,54	1,49	148	9,48	11,38	29,4	17,07	78	42
12A	1,93	1,29	1,5	164	4,83	7,93	23,45	11,72	65	50
13A	1,75	1,3	1,35	132	5,04	7,37	23,28	12,03	70	48
15A	2,15	1,04	2,06	104	5,17	8,62	29,66	18,28	77	38
17A	1,87	1,26	1,48	109	6,03	10,34	27,59	15,52	66	44
18A	2,65	1,38	1,92	175	8,06	8,53	36,51	18,02	83	51
20A	1,3	1,7	1,31	85	5,17	8,62	25,52	14,48	76	43
23A	3,15	1,58	1,99	120	7,59	11,85	47,72	22,28	78	47
24A	1,72	1,27	1,35	129	4,48	10,34	29,31	11,38	91	61
26A	2,46	1,22	2,01	117	5,43	9,7	31,03	14,74	85	53
30A	1,37	1,14	1,2	108	5,17	8,62	24,83	14,48	75	42
33A	1,79	1,33	1,34	85	6,34	7,84	19,91	8,45	90	58
34A	4,3	1,21	3,54	130	6,16	14,7	42,67	21,81	81	49
35A	2,52	1,45	1,73	93	7,11	12,33	29,87	15,65	80	48
42A	2	1,15	1,73	93	6,21	10,09	26,38	13,58	82	49
48A	1,49	1,34	1,11	87	7,24	11,38	23,79	12,41	81	48
49A	4,06	1,68	2,41	136	6,16	15,17	46,94	25,13	78	46
55A	1,82	1,4	1,3	86	7,59	11,38	27,5	12,8	86	53
57A	2,18	1,65	1,31	144	8,53	12,33	31,77	18,49	74	42
58A	3,95	1,17	3,36	146	6,16	8,53	40,3	19,44	83	52
59A	2,06	1,28	1,61	106	7,24	14,14	32,07	13,79	88	57
62A	1,5	1,15	1,35	141	3,45	5,17	21,72	15,17	60	30
64A	1,62	1,1	1,47	130	6,21	7,76	24,83	12,8	82	48
65A	2,89	1,1	2,61	183	4,14	10	38,97	23,79	70	39
67A	4,04	1,15	3,51	164	4,74	7,59	33,19	20,86	68	37
68A	1,4	0,96	1,45	78	5,52	7,93	19,66	12,76	68	35
71A	3,86	1,81	2,13	116	8,41	14,57	42,59	22,41	79	47
72A	1,96	1,35	1,45	158	9,48	14,22	29,4	18,49	69	37
74A	1,82	1,58	1,15	144	10,09	8,53	25,6	17,46	62	32
76A	2,03	1,86	1,09	71	0,69	11,25	32,2	21,34	64	34
80A	3,99	1,58	2,53	130	6,16	11,14	43,86	22,76	59	94
81A	1,86	1,35	1,37	92	6,4	11,25	27,16	13,77	82	49
83A	2,09	1,45	1,44	150	8,53	10,86	26,55	15,52	75	42
85A	1,56	1,13	1,38	127	4,83	7,84	19,31	10,56	80	45
88A	1,25	1,29	0,98	122	5,73	8,45	2,11	11,16	81	47
90A	1,53	1,17	1,31	81	5,59	8,66	20,38	11,9	75	42
91A	2,14	2,06	1,04	126	7,33	1,33	3,49	19,83	75	43
93A	0,96	1,06	0,91	161	4,22	7,84	17,2	8,45	85	51
94A	1,82	1,58	1,15	120	7,37	10,09	25,99	17,07	66	34

97A	1,5	1,32	1,14	165	6,44	11,86	20,35	6,1	96	70
98A	3,07	1,38	2,21	153	5,69	12,41	47,07	2,84	70	40
103A	3,15	1,69	1,87	112	6,9	10,78	37,07	18,97	81	49
104A	2,33	0,92	2,52	166	6,59	11,25	27,16	12,41	87	54
105A	1,67	1,22	1,37	173	5,52	8,97	21,72	12,07	78	44
106A	4,18	1,8	2,32	155	6,47	12,41	45,86	21,58	84	53
108A	3,82	1,04	3,66	144	5,26	8,73	42,7	28,34	63	34
109A	3,51	1,14	3,07	148	5,86	13,45	34,48	15,86	86	54
110A	2,8	1,24	2,26	150	5,82	14,35	30,06	12,03	90	60
113A	2,81	1,28	2,19	132	8,15	14,74	29,48	10,86	92	63
114A	1,3	1,41	1,09	85	4,66	5,82	22,89	14,35	70	37
115A	2,23	0,89	2,49	132	5,17	8,62	26,55	13,79	81	48
116A	2,42	8,38	2,89	101	6,21	9,31	29,87	18,23	71	39
118A	2,44	1,95	1,25	131	8,53	13,28	37,46	23,23	69	38
119A	1,93	1,14	1,7	70	5,82	6,98	24,83	15,13	72	39
121A	2,23	1,49	1,49	85	5,84	8,75	31,36	20,79	64	34
123A	2,59	1,22	2,11	112	4,27	9,7	38,79	19,4	82	50
124A	1,96	1,32	1,49	119	5,91	7,55	26,61	14,78	78	44
125A	2,86	1,24	2,16	122	5,22	11,38	36,98	19,91	78	46
130A	5,94	1,65	3,59	189	9,83	11,9	53,79	32,07	71	40
132A	2,68	1,33	2,01	123	6,9	13,79	36,42	19,83	78	46
134A	2,31	1,16	1,98	146	4,48	6,9	19,31	11,38	75	41
135A	3,91	1,36	2,86	97	7,24	11,38	38,28	16,55	88	57
137A	2,66	1,58	2,3	130	8,19	10,78	31,9	19,4	71	39
138A	2,39	1,35	1,8	94	6,98	11,25	37,24	24,05	66	35
139A	3,43	1,21	2,84	116	4,66	10,47	37,24	19,4	80	48
140A	1,49	4,25	2,84	150	7,43	9,72	38,4	23,23	71	40
144A	4,45	1,46	3,05	221	7,24	9,31	43,45	21,72	82	50

APÊNDICE E - Valores das variáveis ecocardiográficas, adquiridas no modo Doppler, avaliadas ao primeiro momento de avaliação (dia 0), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

ID	onda E	TDE	onda A	rel E/A	TRIV	E/TRIV	Fluxo aórtico	Gradiente aórtico	Fluxo pulmonar	Gradiente pulmonar
1	1,14	69	0,59	1,94	59	1,93	1,34	7,22	0,79	2,49
2	0,68	70	0,45	1,51	44	1,55	0,91	3,3	0,52	1,1
3	0,96	111	0,71	1,35	61	1,57	1,25	6,26	0,81	2,64
4	1,05	108	0,89	1,18	67	1,57	1,36	7,4	0,8	2,56
5	0,9	88	0,7	1,29	67	1,34	...	...	0,74	2,19
7	0,88	93	0,6	1,46	50	1,76	1,45	8,43	1,06	4,46
8	0,75	71	0,59	1,26	67	1,12	1,44	8,31	1,1	4,84
9	0,63	72	0,71	0,88	67	0,94	1,31	6,69	0,86	2,96
10	0,78	115	0,63	1,25	61	1,28	0,97	3,75	0,93	3,48
11	0,72	74	0,65	1,11	50	1,44	1,34	7,16	1,13	5,08
12	0,98	62	0,9	1,08	61	1,61	1,23	6,1	1,1	4,88
13	0,6	80	0,53	1,14	55	1,09	1,11	4,95	1,03	4,23
14	0,81	65	0,67	1,2	55	1,47	1,35	7,34	1,31	6,82
15	1,1	75	0,82	1,36	55	2,00	0,98	3,85	0,67	1,79
16	0,99	84	0,53	1,88	61	1,62	1,16	5,36	0,96	3,71
17	0,77	82	0,88	0,88	50	1,54	1,07	4,61	0,66	1,72
18	1,57	99	0,74	2,11	42	3,74	1,33	7,1	0,88	3,08
19	0,69	82	0,53	1,29	61	1,13	0,96	3,67	1,02	4,14
20	0,7	66	0,51	1,38	55	1,27	1,02	4,16	0,87	3,04
21	0,66	77	0,45	1,48	50	1,32	1,11	4,95	0,82	2,72
22	0,87	84	0,47	1,84	61	1,43	1,44	8,32	1,18	5,61
23	1,16	94	0,76	1,51	55	2,11	1,15	5,25	0,81	2,64
24	0,94	75	0,82	1,15	44	2,14	0,98	3,86	0,84	2,8
25	0,81	56	0,6	1,34	61	1,33	1,04	4,33	1,05	4,43
26	1,45	81	0,96	1,55	37	3,92	1,41	7,94	0,78	2,41
27	0,88	78	0,58	1,52	50	1,76	1,37	7,47	1,07	4,55
28	0,8	61	0,66	1,2	67	1,19	1,38	7,62	1,03	4,23
29	0,82	66	0,52	1,58	72	1,14	1,23	6,00	0,91	3,3
30	0,8	96	0,59	1,37	44	1,82	1,33	7,13	0,87	3,06
33	1,04	86	1,11	0,95	42	2,48	1,18	5,53	0,6	1,42
34	1,7	71	0,71	2,37	33	5,15	1,16	5,34	0,66	1,74
35	1,19	94	0,96	1,24	61	1,95	...	...	0,64	1,64
36	0,96	72	0,61	1,57	44	2,18	1,71	11,7	1,27	6,46
38	0,78	132	0,66	1,2	67	1,16	1,41	7,92	1,15	5,3
39	0,8	88	0,66	1,22	55	1,45	1,45	8,41	1,00	4,04
40	0,85	107	0,71	1,2	61	1,39	1,3	6,77	1,03	4,23
41	0,68	82	0,5	1,36	72	0,94	1,19	5,65	0,84	2,8
42	1,47	69	0,58	2,59	39	3,77	0,91	3,33	0,48	0,91
43	0,77	106	0,64	1,2	50	1,54	1,38	7,61	0,95	3,64
44	0,88	106	0,62	1,42	61	1,44	1,5	8,95	1,26	6,39
45	0,88	71	0,71	1,24	44	2,00	1,34	7,15	1,24	6,19
46	0,76	77	0,66	1,16	72	1,06	1,32	6,98	1,17	5,52
48	0,5	89	0,55	0,91	61	0,82	0,97	3,73	0,82	2,68
49	1,03	115	0,83	1,24	39	2,64	0,76	2,31	0,49	0,95
50	0,65	110	0,52	1,25	63	1,03	1,18	5,54	1,14	5,22

51	0,72	88	0,75	0,97	67	1,07	0,99	3,94	1,06	4,53
53	0,81	71	0,62	1,3	67	1,21	1,44	8,27	0,93	3,48
54	0,58	66	0,38	1,51	55	1,05	1,00	4,03	0,96	3,66
55	0,53	120	0,66	0,81	72	0,74	1,23	6,06	0,91	3,33
56	1,39	90	0,69	2,01	37	3,76	0,87	3,00	0,5	0,99
57	0,46	92	0,45	1,03	78	0,59	1,05	4,44	0,64	1,66
58	1,4	126	0,4	3,48	30	4,67	0,9	3,26	0,51	1,05
59	1,05	97	0,75	1,4	50	2,10	1,53	9,42	0,84	2,8
60	0,81	110	0,63	1,29	37	2,19	1,57	9,9	0,96	3,68
61	0,84	118	0,59	1,42	39	2,15	1,35	7,33	0,9	3,23
62	0,74	99	1,12	0,66	44	1,68	0,86	3,88	0,84	2,8
63	0,64	75	0,6	1,08	67	0,96	1,26	6,35	0,91	3,3
64	0,96	143	1,29	0,75	61	1,57	1,18	5,54	1,05	4,43
65	1,46	77	0,85	1,73	33	4,42	0,98	3,87	0,51	1,05
67	1,67	156	1,17	1,43	44	3,80	4,1	1,01	0,45	0,82
68	0,56	98	0,81	0,69	67	0,84	1,37	7,47	0,85	2,88
69	1,26	72	0,45	2,78	26	4,85	1,15	5,31	0,76	2,34
70	0,59	120	0,39	1,53	55	1,07	0,58	1,37	0,97	3,75
71	1,11	105	0,52	2,13	36	3,08	1,1	4,88	0,63	1,6
72	0,44	115	0,48	0,9	44	1,00	1,28	6,57	1,00	4,04
73	0,83	110	0,47	1,76	59	1,41	1,13	5,14	0,85	2,9
74	0,68	89	0,45	1,51	67	1,01	1,38	7,6	1,02	4,13
75	0,47	90	0,59	0,8	39	1,21	1,23	6,02	1,03	4,23
76	0,75	93	0,54	1,4	44	1,70	0,99	3,91	0,98	3,84
77	0,47	82	0,56	0,83	41	1,15	1,14	5,17	0,96	3,7
78	0,62	84	0,78	0,79	61	1,02	1,16	5,41	0,97	3,75
79	0,46	76	0,77	0,6	55	0,84	1,29	6,71	0,86	2,96
80	1,2	50	0,87	1,39	30	4,00	1,09	4,76	0,66	1,72
81	0,75	71	0,63	1,19	55	1,36	1,41	7,92	0,78	2,41
82	0,72	93	0,76	0,95	67	1,07	1,36	7,35	0,86	2,96
83	0,72	129	0,73	0,98	78	0,92	1,28	6,53	0,9	3,21
85	0,57	78	0,54	1,04	44	1,30	0,9	3,23	0,88	3,13
86	0,72	99	0,48	1,49	50	1,44	1,21	5,88	0,99	3,88
87	0,76	100	0,86	0,88	67	1,13	1,1	4,86	0,98	3,84
88	0,93	88	1,35	0,69	55	1,69	1,22	6,00	0,79	2,49
89	0,59	71	0,51	1,17	55	1,07	1,31	6,84	0,98	3,84
90	0,65	98	0,94	0,69	67	0,97	1,27	6,45	0,88	3,08
91	0,88	88	0,68	1,31	37	2,38	1,13	5,16	0,85	2,91
92	0,77	79	0,7	1,1	81	0,95	1,12	5,03	0,99	3,9
93	0,52	112	0,59	0,88	50	1,04	1,00	4,04	0,61	1,48
94	0,74	106	0,63	1,17	72	1,03	1,33	7,04	1,06	4,53
95	0,48	76	0,42	1,14	44	1,09	1,01	4,07	0,77	2,38
96	0,65	88	0,81	0,79	55	1,18	0,97	3,8	0,82	2,68
97	0,8	88	0,67	1,19	67	1,19	0,94	3,53	0,88	3,08
98	1,23	79	0,47	2,79	33	3,73	0,94	3,53	0,6	1,43
100	0,58	89	0,48	1,2	72	0,81	1,02	4,17	0,82	2,72
101	0,73	109	0,65	1,12	52	1,40	1,71	11,68	0,99	3,94
102	0,62	80	0,44	1,41	67	0,93	...	...	0,8	2,56
103	1,17	67	0,48	2,41	49	2,39	0,9	3,26	0,7	1,99
104	1,01	71	0,93	1,09	18	5,61	1,19	5,66	0,93	3,43
105	0,77	102	0,87	0,89	55	1,40	1,29	6,71	1,24	6,19
106	1,88	104	0,92	2,04	37	5,08	0,9	3,26	0,65	1,69

107	1,42	153	0,72	1,98	41	3,46	1,29	6,65	0,71	2,04
108	1,1	92	0,56	1,95	30	3,67	0,88	3,11	0,52	1,1
109	1,19	133	0,76	1,66	72	1,65	0,89	3,18	0,68	1,85
110	0,76	148	1,13	0,67	44	1,73	1,19	5,65	0,78	2,41
113	0,89	99	0,68	1,32	55	1,62	1,51	9,12	1,11	4,97
114	0,51	92	1,06	0,48	44	1,16	1,02	4,13	0,74	2,19
115	1,07	84	1,49	0,72	52	2,06	1,37	7,54	0,86	2,92
116	1,21	73	1,19	1,01	44	2,75	1,3	6,73	1,06	4,53
117	0,75	132	0,69	1,09	67	1,12	1,12	4,97	0,94	3,57
118	0,61	102	0,45	1,35	67	0,91	0,96	3,65	0,77	2,4
119	0,41	75	0,46	0,9	78	0,53	1,19	5,66	0,74	2,19
120	0,76	89	0,57	1,33	78	0,97	1,57	9,88	0,86	2,96
121	0,84	75	0,48	1,8	70	1,20	1,15	5,25	0,68	1,83
122	0,86	100	0,62	1,39	44	1,95	1,05	4,43	1,23	6,04
123	1,12	107	0,74	1,51	33	3,39	1,52	9,22	0,97	3,75
124	0,82	70	1,02	0,8	55	1,49	1,68	11,3	0,85	2,88
125	1,21	109	0,89	1,36	44	2,75	1,46	8,57	1,13	5,1
126	0,93	124	0,77	1,21	43	2,16	1,58	10,03	0,95	3,63
127	0,54	93	0,5	1,08	61	0,89	0,98	3,84	0,67	1,8
128	0,48	127	0,65	0,74	44	1,09	1,24	6,13	0,83	2,76
130	1,28	143	0,77	1,65	55	2,33	1,46	8,54	0,68	1,85
131	1,74	85	0,55	3,19	30	5,80	1,3	6,81	0,58	1,37
132	0,8	85	1,07	0,74	33	2,42	0,85	2,88	0,85	2,88
133	0,44	60	0,81	0,54	44	1,00	0,74	2,19	0,82	2,72
134	0,8	82	0,92	0,87	48	1,67	0,77	2,37	0,6	1,42
135	1,08	84	0,54	2,02	50	2,16	0,71	2,02	0,54	1,22
136	0,72	71	0,94	0,77	61	1,18	1,2	5,76	1,05	4,43
137	0,73	127	0,86	0,85	67	1,09	1,82	13,23	0,9	3,21
138	1,12	117	0,82	1,37	55	2,04	1,29	6,71	0,9	3,21
139	1,34	109	0,61	2,19	37	3,62	1,02	4,16	0,69	1,89
140	1,24	134	0,81	1,53	33	3,76	1,07	4,54	1,03	4,26
141	0,67	128	0,54	1,24	61	1,10	1,2	5,8	0,87	3,01
142	0,67	77	0,54	1,24	39	1,72	1,21	5,9	0,97	3,75
143	0,5	103	0,66	0,75	61	0,82	1,11	4,94	0,86	2,96
144	1,48	88	0,57	2,62	16	9,25	1,1	4,83	0,76	2,36
145	0,63	79	0,59	1,06	61	1,03	1,31	6,82	1,04	4,36
146	0,55	129	0,36	1,52	83	0,66	1,00	4,00	0,87	3,01
147	0,95	88	0,78	1,21	50	1,90	0,91	3,3	0,86	2,96
148	0,53	69	0,57	0,95	44	1,20	1,17	5,52	0,91	3,3
149	0,92	81	0,71	1,29	50	1,84	1,34	7,21	1,26	6,34
150	0,64	72	0,39	1,65	61	1,05	1,24	6,2	1,23	6,1
151	0,44	92	0,46	0,95	61	0,72	0,98	3,84	0,78	2,41

APÊNDICE F - Valores das variáveis ecocardiográficas, adquiridas no modo Doppler, avaliadas ao segundo momento de avaliação (dia 60), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

ID	onda E	TDE	onda A	rel E/A	TRIV	E/TRIV	Fluxo aórtico	Gradiente aórtico	Fluxo pulmonar	Gradiente pulmonar
1A	1,39	111	0,81	1,73	41	3,39	1,29	6,7	0,54	1,16
2A	0,78	39	0,56	1,41	61	1,28	0,92	3,38	0,69	1,92
3A	0,82	70	0,58	1,42	33	2,48	1,12	5,03	0,85	2,92
4A	1,16	82	0,97	1,2	39	2,97	1,21	5,85	0,85	2,88
7A	0,88	99	0,74	1,2	50	1,76	1,16	5,41	1,05	4,43
9A	0,84	98	0,7	1,2	41	2,05	1,04	4,31	0,97	3,77
10A	0,7	81	0,77	0,91	33	2,12	1,6	10,25	1,05	4,42
11A	0,92	102	0,66	1,39	72	1,28	1,44	8,29	1,33	7,08
12A	0,75	49	0,93	0,81	50	1,50	1,16	5,39	0,87	3,04
13A	0,65	88	0,51	1,28	50	1,30	1,23	6,09	0,96	3,66
15A	1,25	70	1,02	1,23	61	2,05	1,07	4,55	0,78	2,41
17A	0,89	88	0,62	1,45	44	2,02	1,14	5,17	0,64	1,66
18A	1,69	95	0,96	1,77	53	3,19	1,33	7,03	0,91	3,31
20A	0,71	71	0,45	1,59	70	1,01	0,94	3,54	0,86	2,96
23A	1,13	87	0,92	1,24	50	2,26	1,37	7,47	0,92	3,41
24A	1,27	109	1,1	1,16	54	2,35	0,89	3,15	0,8	2,56
26A	1,32	146	1,08	1,23	50	2,64	1,27	6,41	1,15	5,29
30A	0,72	66	0,71	1,02	44	1,64	1,36	7,35	0,82	2,72
33A	0,88	79	0,95	0,92	50	1,76	1,03	4,21	0,78	2,42
34A	1,24	83	0,39	3,18	33	3,76	1,17	5,49	0,96	3,66
35A	0,99	89	0,82	1,21	44	2,25	0,82	2,69	0,74	2,19
42A	1,44	93	0,71	2,03	22	6,55	0,9	3,25	0,85	2,88
48A	0,4	84	0,6	0,67	61	0,66	0,91	3,33	0,8	2,56
49A	1,4	77	0,89	1,56	23	6,09	0,68	1,86	0,44	0,77
55A	0,59	84	0,32	1,88	94	0,63	1,27	6,47	0,85	2,88
57A	0,38	92	0,57	0,66	52	0,73	1,23	6,06	0,76	2,34
58A	1,45	109	0,48	3,45	26	5,58	1,15	5,27	0,9	3,24
59A	0,65	85	0,81	0,82	41	1,59	0,82	2,67	0,6	1,42
62A	0,63	104	0,99	0,64	72	0,88	0,95	3,58	0,78	2,41
64A	0,96	130	1,16	0,83	55	1,75	1,46	8,57	1,09	4,75
65A	1,22	71	0,58	2,09	48	2,54	1,02	4,13	0,57	1,31
67A	1,73	100	1,18	1,46	55	3,15	...	...	0,48	0,91
68A	0,56	91	0,88	0,64	52	1,08	1,13	5,08	0,74	2,19
71A	1,16	112	0,56	2,07	37	3,14	1,32	7	0,77	2,36
72A	0,86	69	...	...	35	2,46	1,29	6,65	1,12	5,03
74A	0,81	88	0,68	1,19	55	1,47	1,12	4,98	1,07	4,56
76A	0,83	89	0,69	1,21	67	1,24	1,39	7,75	1,13	5,09
80A	1,59	94	0,64	2,48	44	3,61	0,91	3,28	0,59	1,38
81A	0,71	115	0,59	1,21	57	1,25	1,2	5,81	0,87	3,03

83A	0,84	95	0,74	1,14	44	1,91	1,33	7,06	0,99	3,89
85A	0,48	74	0,68	0,7	52	0,92	1,02	4,17	0,96	3,7
88A	0,76	85	1,11	0,69	44	1,73	1,09	4,76	0,81	2,6
90A	0,76	81	1,01	0,71	67	1,13	0,8	2,56	0,79	2,49
91A	0,77	82	0,54	1,42	52	1,48	1,03	4,26	0,71	2,02
93A	0,66	67	0,74	0,9	41	1,61	1,68	11,24	0,75	2,26
94A	0,76	100	0,56	1,37	67	1,13	0,97	3,76	1,05	4,43
97A	0,52	98	0,81	0,65	44	1,18	0,92	3,4	0,87	3,04
98A	1,23	63	0,43	2,85	33	3,73	1,07	4,62	0,63	1,58
103A	1,14	86	0,48	2,4	74	1,54	0,92	3,42	0,73	2,15
104A	1,22	76	1,01	1,21	...	...	1,74	12,15	0,79	2,49
105A	0,68	74	0,82	0,83	41	1,66	1,11	4,89	1,17	5,52
106A	2,05	95	1,02	2,01	44	4,66	0,88	3,12	0,55	1,22
108A	1,04	72	0,64	1,64	48	2,17	0,62	1,53	0,45	0,81
109A	1,18	132	0,79	1,5	59	2,00	0,83	2,78	0,54	1,15
110A	0,59	134	0,92	0,64	61	0,97	1,12	4,98	0,67	1,82
113A	0,83	87	0,75	1,11	44	1,89	...	...	1,21	5,88
114A	0,48	92	0,87	0,56	55	0,87	1,28	6,58	1,06	4,53
115A	0,81	91	1,09	0,74	48	1,69	1,16	5,41	0,66	1,72
116A	1,34	118	1,07	1,25	61	2,20	1,82	13,25	1,21	5,88
118A	0,78	104	0,55	1,43	48	1,63	0,88	3,07	0,98	3,8
119A	0,37	103	0,52	0,72	44	0,84	1,09	4,74	0,69	1,89
121A	0,51	89	0,77	0,66	74	0,69	1,26	6,37	0,58	1,36
123A	1,42	120	0,85	1,67	50	2,84	1,54	9,44	0,87	3,04
124A	0,93	66	1,18	0,79	55	1,69	1,44	8,31	0,85	2,88
125A	1,18	96	1,08	1,09	61	1,93	1,04	6,26	1,12	5,06
130A	1,34	71	...	...	37	3,62	1,34	7,14	0,49	0,96
132A	1,17	84	0,84	1,4	24	4,88	1,24	6,18	1,00	4,00
134A	0,83	84	0,69	1,19	61	1,36	1,18	5,56	0,82	2,72
135A	1,11	116	0,54	2,17	55	2,02	0,85	2,92	0,81	2,66
137A	0,6	112	1,02	0,59	55	1,09	1,53	9,42	0,9	3,21
138A	1,03	100	0,66	1,56	37	2,78	1,19	5,67	0,79	2,52
139A	1,23	87	0,53	2,33	41	3,00	1,22	5,95	0,79	2,52
140A	1,2	97	0,76	1,58	37	3,24	1,28	6,53	1,25	6,21
144A	1,85	61	0,81	2,29	15	12,33	1,29	6,67	1,06	4,47

APÊNDICE G - Concentrações séricas dos biomarcadores no primeiro momento de avaliação (dia 0), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015)- São Paulo - 2016

ID	Troponina (ng/mL)	sST2 canino (pg/mL)	NT-proBNP (pmol/L)
1	0,03	28,09	2233
2	0,01	25,22	294
3	0,02	33,78	835
4	0,13	39,26	3425
5	0,09	51,82	1515
7	0,06	28,51	1060
8	0,01	27,78	314
9	0,02	27,42	255
10	0,02	18,62	561
11	0,03	24,89	258
12	0,08	41,65	1991
13	0,24	42,17	523
14	0,03	48,62	471
15	1,67	46,13	3009
16	0,01	58,17	368
17	0,09	32,2	453
18	0,09	32,88	548
19	0,05	38,31	646
20	0,03	18,26	956
21	0,14	36,05	461
22	0,03	33,56	250
23	0,03	20,03	1559
24	0,02	31,88	675
25	0,05	21,66	1075
26	0,12	32,62	250
27	0,01	23,81	307
28	0,08	43,96	474
29	0,01	31,87	268
30	0,01	78,17	250
33	0,09	69,89	4524
34	1,3	72,07	4518
35	0,03	131,09	1026
36	0,04	58,18	445
38	0,02	48,31	356
39	0,03	26,41	868
40	0,03	20,64	306
41	0,02	16,54	1106
42	0,08	38,04	1214
43	0,03	30,02	250
44	0,03	19,8	458
45	0,05	25,56	422
46	0,01	42,16	539
48	0,02	13,54	752
49	0,05	28,74	2309
50	0,03	31,35	250

51	0,02	16,52	480
53	0,03	35,01	306
54	0,02	36,65	685
55	0,03	39,45	500
56	0,18	51	8020
57	0,02	48,3	264
58	0,06	31,79	5493
59	0,08	39	1311
60	0,01	46,99	522
61	0,02	37,73	361
62	0,05	50,74	411
63	0,05	47,99	397
64	0,09	42,44	1065
65	0,03	38,93	1535
67	0,4	61,11	7655
68	0,01	50,99	685
69	0,1	79,92	3701
70	1,14	57,82	583
71	0,21	46,46	5776
72	1,14	36,66	1087
73	0	68,44	472
74	0,17	72,38	583
75	0,07	66,63	777
76	0,02	22,26	1015
77	0,05	65,16	370
78	0,03	73,9	674
79	0,36	70,12	1124
80	0,07	50,45	3380
81	0,1	72,45	2034
82	0,04	58,93	389
83	0,04	36,61	586
85	0,05	17,35	360
86	0,01	33,71	389
87	0,01	30,7	848
88	0,05	60,07	589
89	0,04	72,38	376
90	0,13	25,79	3301
91	0,05	34,55	951
92	0,06	40,09	1211
93	0,07	29,21	602
94	0,03	18,94	314
95	0,02	30,28	430
96	0,06	30,89	250
97	0,05	26,96	1327
98	0,34	32,95	3932
100	0,06	42,8	513
101	0,02	19,31	919
102	0,02	42,24	250
103	0,06	52,1	306
104	0,09	40,12	1303
105	0,05	59,44	484
106	0,18	39,15	5603

107	0,08	42,1	1764
108	0,1	30,19	5267
109	0,14	28,27	5875
110	0,07	28,16	1178
113	0,06	55,49	2710
114	0,27	56,61	250
115	0,04	48,78	2064
116	0,05	57,39	5786
117	0,03	51,62	686
118	0,08	48,72	1304
119	0,01	24,07	537
120	0,05	60,49	433
121	0,01	22,65	366
122	0,11	26,09	749
123	0,05	32,27	2352
124	0,03	31,85	942
125	0	18,5	1172
126	0	41,54	333
127	0,04	39,88	792
128	0,03	49,04	250
130	0,12	47,05	6271
131	0,78	46,75	4419
132	0,02	32,6	1044
133	0,01	37,11	309
134	0,03	38,61	1529
135	0,14	43,62	9317
136	0,02	45,21	250
137	0,06	8,5	987
138	0,02	43,53	486
139	0,05	66,7	4409
140	0,12	85,83	6076
141	0,03	24,77	1640
142	0,02	25,07	250
143	0,02	25,71	703
144	0,19	28,71	5797
145	0,05	42,71	706
146	0,03	44,34	250
147	0,02	60,86	647
148	0,02	34,71	250
149	0,11	32,65	250
150	0,01	47,11	443
151	0,01	52,31	250

Apêndice H - Concentrações séricas dos biomarcadores no segundo momento de avaliação (dia 60), Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

ID	Troponina (ng/mL)	sST2 canino (pg/mL)	NT-proBNP (pmol/L)
1A	0,03	28,09	2233
2A	0	39,89	366
3A	0,03	28,71	885
4A	0,12	48,04	4163
7A	0,04	26,01	1503
9A	0,02	24,02	315
10A	0,03	63,27	526
11A	0,03	44,17	602
12A	0,04	63,27	1343
13A	0,03	91,19	444
15A	0,04	74,07	1744
17A	0,05	42,16	600
18A	0,09	47,16	948
20A	0,03	41,79	710
23A	0,03	53,11	1410
24A	0,05	54,14	1526
26A	0,14	32,26	250
30A	0,01	36,54	250
33A	0,1	44,28	1689
34A	0,03	92,83	5420
35A	0,06	82,89	943
42A	0,04	58,37	1811
48A	0,02	40,15	1271
49A	0,05	47,9	2872
55A	0,02	40,9	692
57A	0,02	31,85	250
58A	0,09	33,61	6623
59A	0,05	32,78	689
62A	0,04	56,4	250
64A	0,07	51,21	1204
65A	0,03	37,5	1318
67A	0,64	66,99	9579
68A	0,03	67,23	697
71A	0,19	70,24	5157
72A	0,89	67,05	1591
74A	0,05	30,45	498
76A	0,01	29,2	651
80A	0,08	26,99	4161
81A	0,07	29,06	1738
83A	0,02	22,5	707
85A	0,04	23,58	889
88A	0,18	57,11	960
90A	0,12	32,2	9347
91A	0,03	47,28	727

93A	0,13	59,1	572
94A	0,03	31,54	418
97A	0,03	42,59	905
98A	0,24	28,97	3140
103A	0,08	53,58	501
104A	0,08	38,74	2002
105A	0,03	63,63	455
106A	0,16	63,75	6479
108A	0,16	63,05	7209
109A	0,13	36,28	>10000
110A	0,03	26,96	974
113A	0,06	53,48	4904
114A	0,18	65,42	6536
115A	0,03	30,91	1756
116A	0,08	50,83	4544
118A	0,06	34,11	924
119A	0,03	14,89	565
121A	0,02	34,21	302
123A	0,11	60,54	3798
124A	0,04	27,25	1552
125A	0,02	22,94	762
130A	0,32	31,04	9591
132A	0,04	55,89	1369
134A	0,04	60	1329
135A	0,19	49,1	8798
137A	0,11	28,88	486
138A	0,03	63,46	939
139A	0,06	69,47	4807
140A	0,15	67,96	4552
144A	0,19	78,03	...

**APÊNDICE I - Termo de consentimento livre e esclarecido, Serviço de
Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PROPRIETÁRIO OU RESPONSÁVEL

1. NOME:
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL

2. NOME DO ANIMAL E/OU NÚMERO DE REGISTRO (TATUAGEM, MICROCHIP, BRINCO)
.....
- ESPÉCIE: RAÇA: PELAGEM:
- SEXO: DATA DE NASCIMENTO:

DADOS SOBRE A PESQUISA

3. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: BIOMARCADORES NA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA CONGESTIVA SECUNDÁRIA A DOENÇA VALVAR CRÔNICA DE MITRAL EM CÃES DOMÉSTICOS
- PESQUISADORES: Dra Denise Saretta Schwartz
- CARGO/FUNÇÃO: Prof. Dra FMVZ/USP / INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº CRMV 4586
4. Departamento: Clínica Médica de Pequenos Animais Serviço: Cardiologia
5. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA: Mínimo
6. DURAÇÃO DA PESQUISA : 01/08/2013 a 01/08/2015

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Conforme dados acima autorizo a participação do animal _____ sob minha propriedade na pesquisa **Biomarcadores na insuficiência cardíaca secundária a doença valvar crônica de mitral em cães domésticos** da doutoranda Jacqueline Ribeiro de Castro sobre orientação da Professora Doutora Denise Saretta Schwartz, com o objetivo de se estabelecer um painel de marcadores cardíacos em cães domésticos com insuficiência cardíaca decorrente de doença valvar crônica de mitral em diferentes estágios.

Meu animal será submetido à avaliação clínica, mensuração da pressão arterial sistêmica, exame radiográfico, eletrocardiográfico, ecocardiográfico e coleta de sangue por punção da veia Jugular.

Comprometo-me a informar o destino do animal e trazê-lo nos retornos agendados durante o período de acompanhamento clínico cardiológico. O cão será acompanhado na rotina clínica em intervalos definidos e agendados de acordo com a gravidade do caso, seguindo o protocolo adotado no serviço.

As informações obtidas (relativas tanto ao proprietário quanto ao animal) serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum animal ou proprietário;

Como compromisso dos pesquisadores e benefícios os exames realizados destinados a presente pesquisa não gerarão custo ao proprietário, no entanto, exames e procedimentos que se fizerem necessário no acompanhamento do animal serão de inteira responsabilidade do proprietário; o qual arcará inteiramente com as despesas.

Concordo voluntariamente que meu(s) animal(is) participe(m) deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu ou meu(s) animal(is) possa(m) ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do proprietário

Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

APÊNDICE J - Ficha clínica de atendimento, Serviço de Cardiologia, HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016

FICHA DE ATENDIMENTO - PROJETO IVCM

() André () Caio () Jaqueline () Lilian () Mariana () Matheus () Paula

DATA: / /

1. IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL

CAO N^o: PESO: kg

PESO: kg

Nome: _____ Prontuário: _____

Especie: () CAN Raça:

Idade: a m Sexo: () M () F

Proprietário: _____ Telefone: _____

2. CLASSIFICAÇÃO

A) DOENÇA VALVAR CRÔNICA:

☐ A ☐ B1 ☐ B2 ☐ C1 ☐ C2 ☐ D1 ☐ D2

B) INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

() I () II () III () IV

3. ANAMNESE

A) Antecedentes:

- Vacinação: () anual. Quais? _____ () desatualizada

- Vermifugação: () Sim () Não. Frequência: _____ Produto: _____
() Não

- Antecedentes mórbidos:

B) Queixa principal:

C) Sistema cardio-respiratório:

() cansaço fácil () tosse () dispnéia () síncope
() cianose () secreção naso-ocular () pré-síncope
() edema de membros () ascite () convulsão () espíritos

Dirofilariose: () Epidemiologia () Preventivos
() outros:

() antiarrítmicos: 1) _____ dose: _____, há _____
 2) _____ dose: _____, há _____
 () Outros: _____

K) Outras informações relevantes:

Contactantes: () Não () Sim _____
 Roedores: () Não () Sim _____

4. EXAME FÍSICO

T: _____ °C FC: _____ bpm FR: _____ mpm TPC: _____
 Hidratação: _____ Mucosas: _____
 Linfonodos: _____
 Estado geral: _____ Padrão respiratório: _____
 Pulso: _____
 PA: _____
 ACP: _____

ECC (Purina ®): 1 a 3 abaixo do peso; 4 e 5 peso ideal; 6 e 7 sobrepeso; 8 e 9 obeso

Caio: _____ Avaliador 2: _____

EMM: 0 (perda extrema de MM) a 3 (MM preservada)

Caio: _____ Avaliador 2: _____

Outros achados: _____

5. EXAMES COMPLEMENTARES

A) MENSURAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA

Circunferência: _____ cm Manguito: _____ cm

() pano () plástico

Animal: () tranqüilo () agitado () muito agitado

PAS 1- _____ mmHg

PAS 2- _____ mmHg

PAS 3- _____ mmHg

PAS 4- _____ mmHg

PAS 5- _____ mmHg

Média das PAS: _____ mmHg

() normal () hipertensão () hipotensão

B) EXAME ELETROCARDIOGRÁFICO

Análise em derivação DII, sensibilidade N e velocidade 50 mm/s

FC: _____ bpm

Ritmo: _____

Eixo cardíaco: _____

Onda P: _____ s X _____ mV

PR: _____ s

Complexo QRS: _____ s X _____ mV

Segmento ST: _____

QT: _____ s

Onda T: _____

Outros: _____

Derivações pré-cordiais:

CV5RL: R: _____ mV S: _____ mV T: _____

CV6LL: R: _____ mV S: _____ mV T: _____

CV6LU: R: _____ mV S: _____ mV T: _____

V10: QRS: _____ T: _____

LAUDO: _____

C) EXAME RADIOGRÁFICO

VHS: Horizontal: _____ Vertical: _____ Total: _____

Cardiomegalia: () Sim () Não

Aumento de câmaras: () AE () AD () VE () VD

Desvio de traquéia: () Sim () Não

Colapso de traquéia: () Sim () Não

Compressão de brônquios: () Sim () Não

Congestão de vasos: () Sim () Não

Edema pulmonar: () Sim () Não

() Localizado () Difuso

Padrão pulmonar predominante: () Alveolar () Intersticial () Brônquico () Misto

Efusão: () Ausente () Pleural () Pericárdica

Laudo: _____

D) EXAME ECOCARDIOGRÁFICO

FC: _____ bpm Ritmo _____

ECOCARDIOGRAFIA MODO M

SIVd espessura: _____ movimento: _____
 SIVs espessura: _____ movimento: _____
 PVEd espessura: _____ movimento: _____
 PVEs espessura: _____ movimento: _____
 DVED: espessura: _____ movimento: _____
 DVEs: espessura: _____ movimento: _____
 Fej: _____ FS: _____ TEVE: _____
 DC: _____ Vol. sist.: _____ Vol. Diast.: _____ Vej: _____
 SIVd/PVEd: _____ SIVs/PVEs: _____ dES: _____
 Vecf: _____ PPVE: _____ PSIV: _____
 Valva mitral: _____ Valva aórtica: _____
 Valva tricúspide: _____ Valva pulmonar: _____
 Aorta: _____ Atrio esquerdo: _____
 Relação Ao/AE: _____ Relação AE:Ao: _____
 Átrio direito: _____ Ventriculo direito: _____
 Pericárdio: _____
 Movimento: _____

ECOCARDIOGRAFIA DOPPLER

Fluxo Mitral: _____
 Mitral onda E: _____ Mitral onda A: _____ Relação E/A: _____
 Fluxo Tricúspide: _____
 Fluxo aórtico: Vmáx: _____ Gradiente: _____
 Fluxo pulmonar: Vmáx: _____ Gradiente: _____
 TRIV: _____
 Regurgitação mitral: MR Vmáx: _____ dP/dtmax: _____
 PISA: RSV: _____ ERO: _____

ECOCARDIOGRAFIA TISSUE DOPPLER IMAGING – TDI**PAREDE LIVRE DE VE (longitudinal 4 câmaras):**

Base: Sm: _____ Em: _____ Am: _____
 Mitral: Sm: _____ Em: _____ Am: _____
 Ápice: Sm: _____ Em: _____ Am: _____

SÉPTO INTERVENTRICULAR (longitudinal 4 câmaras):

Base: Sm: _____ Em: _____ Am: _____
 Mitral: Sm: _____ Em: _____ Am: _____
 Ápice: Sm: _____ Em: _____ Am: _____

PAREDE LIVRE DE VE (transversal- papilares):

Endocárdio: Sm: _____ Em: _____ Am: _____
 Epicárdio: Sm: _____ Em: _____ Am: _____

Laudos: _____

E) EXAMES LABORATORIAIS (C = coletado / N = não é necessário):

Glicemia _____ mg/dL Lactato _____ mmol/L Dirofilariose: () positivo () negativo
 () Hemograma () FR () FH () GGT () Eletrólitos
 () Urina I () Urina II () relação proteína/creatinina urinária

F) TESTE DE CAMINHADA DE 6 MINUTOS

Distância percorrida: _____ antes: FC: _____ bpm
 Condutor: _____ imediatamente após: FC: _____ bpm
 Avaliação da caminhada (escala): _____ após 5 minutos: FC: _____ bpm

0 | _____ | 10

G) MEDIDAS MORFOMÉTRICAS

- comprimento do focinho à base da cauda: _____ cm
- comprimento da base da cabeça à base da cauda: _____ cm
- altura de cernelha: _____ cm
- altura da crista do íleo: _____ cm
- altura da articulação escapulo-umeral: _____ cm
- distância da articulação escapulo-umeral até o carpo: _____ cm
- distância da articulação coxo-femural ao calcâneo: _____ cm
- circunferência do tórax: _____ cm
- circunferência do abdômen: _____ cm
- circunferência pélvica: _____ cm
- medida da patela ao calcâneo: _____ cm

6. DIAGNÓSTICO: _____

7. TRATAMENTO: _____

**APÊNDICE K - Ficha de avaliação em formato eletrônico para análise dos
desfechos dos cães incluídos no estudo, Serviço de Cardiologia,
HOVET/FMVZ-USP (2013-2015) - São Paulo - 2016**

FICHA DE AVALIAÇÃO DE DESFECHO - PROJETO IVCM

() Bruna () Letícia

DATA: __/__/__

1. IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL

CÃO Nº: _____

Nome: _____

Prontuário: _____

Raça: _____

Proprietário: _____

Telefone: _____

2. CLASSIFICAÇÃO

ESTÁGIO DA DOENÇA VALVAR CRÔNICA:

() A () B1 () B2 () C () D

3. ENTREVISTA TELEFÔNICA

() SUCESSO () INSUCESSO

Número tentativas: _____

A) Estado do paciente:

Está vivo () SIM () NÃO

Paciente vivo, avaliação do estado atual de saúde

Evolução da doença DVCM e data (s) da (s) possível (s) descompensação(s)

Se óbito, detalhes sobre o evento? () natural () eutanásia () súbita () internação ()
definido causa *mortis* () necropsia

() óbito por causa cardíaca () óbito por causa não cardíaca

Data do óbito (o mais preciso possível) _____