

CAIO NOGUEIRA DUARTE

**Efeito do anlodipino no tratamento da insuficiência cardíaca em
cães com doença mixomatosa da valva mitral**

São Paulo

2021

CAIO NOGUEIRA DUARTE

**Efeito do anlodipino no tratamento da insuficiência cardíaca em
cães com doença mixomatosa da valva mitral**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Profa. Dra. Márcia de Oliveira Sampaio Gomes

São Paulo

2021

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. 4070
FMVZ

Duarte, Caio Nogueira
Efeito do anlodipino no tratamento da insuficiência cardíaca em cães com doença mixomatosa da valva mitral / Caio Nogueira Duarte. – 2021.
67 f. ; il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2021.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Marcia de Oliveira Sampaio Gomes.

1. Vasodilatadores. 2. Endocardiose. 3. Valvopatia. 4. Terapêutica da insuficiência cardíaca congestiva. 5. Bloqueador de canal de cálcio. I. Título.



Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Comissão de Ética no Uso de Animais



FMVZ USP

DECLARAÇÃO

Declaramos que, por motivos técnicos, o sistema eletrônico de submissão de propostas à Plataforma Orion da CEUA/FMVZ/USP encontra-se fora do ar para manutenção.

Desta forma, esta CEUA analisou e aprovou a inclusão do aluno Caio Nogueira Duarte, Nº USP 5670400, como executor do projeto intitulado “Avaliação do tratamento de cães com degeneração valvar crônica de mitral estágio C com terapia convencional associada ao anlodipino versus terapia convencional e placebo” (CEUA nº 7635010716), bem como a sua orientadora, a Profa. Dra. Marcia de Oliveira Sampaio Gomes.

Aprovou-se também a alteração do título do **projeto para “Efeito do anlodipino no tratamento da insuficiência cardíaca em cães com doença mixomatosa da valva mitral”**. A mudança do título foi necessária para adequação à nova nomenclatura da doença em questão, proposta pelas diretrizes do *American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM, 2019)*.

Ressalte-se que todos os procedimentos de alterações deverão ser inseridos no sistema Orion - Plataforma online de submissão de projetos (caso não tenha sido inserido online), para que fique devidamente registrado.

São Paulo, 30 de abril de 2021.

Marcelo Bahia Labruna
Coordenador

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: DUARTE, Caio Nogueira

Título: **Efeito do anlodipino no tratamento da insuficiência cardíaca em cães com doença mixomatosa da valva mitral**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a 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: _____

DEDICATÓRIA

Dedico está tese a minha avó, Gertrudes Gimenes da Costa (*in memoriam*) que foi sempre muito presente em minha vida e participou muito da minha criação quando eu era criança e cuidava de mim, meu irmão e meus primos para meus pais e tios trabalharem. De certa forma foi responsável por eu escolher a carreira de médico veterinário por me ajudar a cuidar dos animais doentes no sítio, sempre me apoiar quando aparecia com um animal novo em casa e por deixar levar pra sua casa os animais do sítio quando estavam doentes, velhos ou quando iam ter filhotes. Muitas vezes o quintal da sua casa parecia um zoológico e apesar de sempre dizer que já tinham muitos bichos, era sempre ela que me ajudava a convencer meu pai a aceitar pegar mais um e no final estava apegada a eles, assistindo televisão na sala com os cachorros no sofá.

Lembro que ficou tão emocionada na minha formatura da graduação que não parava de chorar ao final. Esteve presente na minha defesa de mestrado e por pouco não poderá estar na defesa de doutorado, mas sei que de certa forma estará.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Márcia, meu pai Ricardo, minha avó Gertrudes (*in memoriam*) e minha tia Marilza por sempre estar ao meu lado, pela educação que me deram e por sempre me apoiarem no meu sonho de me tornar Médico Veterinário.

Ao meu irmão Guilherme, minha cunhada Amanda, meu sobrinho Enzo, meu tio José Luís, minha tia Sandra e meus primos André e Felipe, por fazerem parte da minha vida. Ao meu tio Hércules que, apesar de não estar mais entre nós, sei que sempre está comigo em pensamento.

Aos meus amigos e companheiros de pós-graduação, Fernanda Chicharo, Natalia Garla, Amanda Gomes, Brana Bonder, Bruna Ruberti, Vinícius Vasques, Diego Garcia, Fernando Gonzalez, Vivian Pedrinelli, Larissa Risolia, Leandro Haroutune, Telma Strauss, Andressa Amaral, Rodrigo Olivindo, Ariane Galdino, Bruno Magalhães, Gabriel Siqueira, Tatiane Paoli, Pamela Bosche e Ronald Carvalho por tornarem esses quatro anos de doutorado mais leves e descontraídos com as conversas e brincadeiras na salinha dos pós-graduandos, almoços no bandeirão, confraternizações e por toda ajuda neste período. Agradeço a eles também pela amizade e por esses excelentes anos de pós-graduação.

A Cecilia Zarif, Cassia Santiago, Deyseiany da Silva, Vinícius de Andrade e Airton Rodrigues por toda a colaboração para a execução deste estudo. Sem a ajuda desta equipe, a realização do estudo não seria possível. Além disso, também são grandes amigos e foram companheiros importantes de pós-graduação!

A Cristina Amaral por ser aquela amiga de todas as horas mesmo! Por ter contribuído em todas as etapas do estudo, sempre com muita dedicação. Não dá para mensurar em palavras o quanto ela contribui para este projeto. Além de ser uma profissional extremamente competente, é uma pessoa incrível que eu tenho o privilégio de ser amigo.

A Mariana Porsani por ter contribuído encaminhando um grande número de pacientes para este estudo e por tornar o nosso dia a dia na pós-graduação muito mais divertido! Uma amiga que o doutorado me deu e que vou levar para a vida.

Ao Fábio Teixeira por ser mais que um amigo, um irmão mais velho que a vida me deu. Por ser um amigo desde a graduação, que sempre esteve ao meu lado e sempre pude contar, além de ter sido companheiro de mestrado e doutorado. Por ser sempre tão sensato e por dar bons conselhos.

Ao Vinícius Dayoub por auxiliar no recrutamento de muitos cães para este estudo no período que era residente do Serviço de Cardiologia do HOVET-FMVZ-USP e por todo o suporte no tratamento dos pacientes quando chegavam em emergência e descompensados, desde a admissão até a alta.

A Márcia Gomes por ser mais do que uma orientadora, uma amiga! Por sempre confiar e acreditar em mim, mais do que eu mesmo. Por todo aprendizado, apoiar minhas ideias, sempre me incentivar a crescer na carreira e por ser uma orientadora tão humana e acolhedora, que além de se preocupar com as questões técnicas e acadêmicas, nunca deixa de lado as questões pessoais de seus orientados.

A Profa. Maria Helena M. A. Larsson por ser uma das idealizadoras deste projeto, por ter me convidado para assumi-lo e confiá-lo a mim. Por todo o apoio durante o doutorado e ensinamentos.

A Rebecca Pessoa, também idealizadora deste estudo, agradeço por ter confiado a mim a sua execução, por todo auxílio e suporte ao estudo e nos momentos que necessitei e por sua amizade.

A Paula Itikawa pela amizade, pelos conselhos ao longo do doutorado e por me ajudar a não desistir nos momentos difíceis.

A Lilian Petrus e Elaine Soares, grandes mestres que tenho, com quem aprendi muito de cardiologia e que hoje tenho a honra de poder trabalhar com elas.

Aos meus grandes amigos, Thaís Rossetto, Felipe Soares, Natália Cruz, Aline Ogasawara, Mariana Salles, Thaís Pedretti, Fábio Hirata, Rafael Marin, Ana Carolina Ladenthin, Cynthia Fraga e Bruno Gonzalez, por serem os melhores amigos e por sempre poder contar com vocês. Por ouvirem os meus desabaços e por tornarem os dias e momentos difíceis nesses anos de pós-graduação mais fáceis de serem superados.

A todos os cães que participaram deste estudo pela grande colaboração com a pesquisa. Sem eles, não seria possível e nada faria sentido. Meus sinceros agradecimentos.

A todos os meus animais que já se foram, em especial os cães: Bibó, Tob, Brenda, Dara, Dolly, Foca, Pancho, Conan I, II e III, por serem a grande razão de eu ter escolhido a profissão de Médico Veterinário.

A Mel, Chase e Esmeralda por serem a minha motivação para nunca desistir e pelo amor incondicional que só os cães conseguem expressar. Por me receberem todos os dias que chego em casa com a mesma empolgação de sempre! Por serem a minha motivação para tentar cada vez mais ser um profissional melhor para cuidar deles e dos outros animais.

A FAPESP por conceder o auxílio pesquisa que custeou este estudo: processo nº2016/18177-2, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

A CAPES por conceder a bolsa de doutorado: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A Boehringer Ingelheim pela doação de todo o Vetmedin (pimobendan) utilizado para os pacientes deste estudo.

RESUMO

DUARTE, C.N. **Efeito do anlodipino no tratamento da insuficiência cardíaca em cães com doença mixomatosa da valva mitral**. 2021. 67 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

A doença mixomatosa da valva mitral (DMVM) é a afecção mais frequentemente diagnosticada na prática da cardiologia veterinária em âmbito mundial. O princípio teórico da utilização do anlodipino no paciente com DMVM é a redução da pós-carga, de modo a diminuir a fração regurgitante e, conseqüentemente, a sobrecarga de volume tanto do átrio quanto do ventrículo esquerdos. Objetivou-se avaliar o efeito do anlodipino em cães com DMVM estágio C no retardamento da evolução da doença, aumento da sobrevida e na melhora da qualidade de vida, de índices ecocardiográficos e parâmetros clínicos. Este foi um estudo clínico randomizado duplo-cego placebo-controle, no qual foram recrutados cães com DMVM estágio C que foram tratados com terapia convencional (furosemida, espironolactona, enalapril e pimobendan) e randomizados em dois grupos, um que recebeu anlodipino e outro placebo. O tempo de acompanhamento dos cães foi de 10 meses. Os desfechos primários foram: edema pulmonar cardiogênico, ascite associada a efusão pleural, evolução para o estágio D da DMVM e morte por causa cardiogênica, e também foi analisado o tempo de ocorrência de cada desfecho. Foram incluídos 40 cães, sendo 18 no grupo anlodipino e 22 no grupo placebo. A dose média de anlodipino que o grupo tratado recebeu foi 0,31 mg/kg a cada 24 horas. Em relação a furosemida, a dose média diária do grupo placebo (6,27 mg/kg/dia \pm 2,60) foi significativamente maior do que o grupo anlodipino (4,31 mg/kg/dia \pm 2,16, $p=0,041$) apenas no T7. O grupo placebo apresentou aumento gradual da dose média diária de furosemida ao longo dos tempos de avaliação, sendo a dose no T7 e T9 (6,27 mg/kg/dia \pm 2,60 e 5,96 mg/kg/dia \pm 2,38) significativamente maior do que a dose no T1 (4,12 mg/kg/dia \pm 2,01, $p=0,004$). A dose média diária de espironolactona foi significativamente maior no grupo placebo do que no grupo anlodipino no T7 (2,83 mg/kg/dia \pm 0,77 vs. 2,16 mg/kg/dia \pm 0,41, $p=0,008$) e T9 (2,87 mg/kg/dia \pm 0,98 vs. 2,06 mg/kg/dia \pm 0,39, $p=0,003$). O pimobendan apresentou diferença na sua dose

média entre os tempos no grupo placebo ($p < 0,001$). Em relação a pressão arterial sistêmica, na comparação entre os grupos, houve diferença apenas no T3 aonde o grupo anlodipino apresentou valor significativamente menor ($118 \text{ mmHg} \pm 13,81$) do que o grupo placebo ($128 \text{ mmHg} \pm 20,05$, $p = 0,028$). O valor de creatinina no grupo placebo no T9 foi $1,95 \text{ mg/dL} (\pm 2,03)$, significativamente maior do que a basal ($1,21 \text{ mg/dL} \pm 0,40$) e no T7-10 ($1,16 \text{ mg/dL} \pm 0,48$) e T5 ($1,29 \text{ mg/dL} \pm 0,31$, $p = 0,002$). Em relação ao ecocardiograma, o DIVEsN no T5 no grupo placebo ($0,96 \pm 0,25$) foi significativamente maior do que no grupo anlodipino ($0,82 \pm 0,29$, $p = 0,039$). Foi avaliada a ocorrência, risco relativo e tempo médio em dias para atingir cada desfecho primário e não houve diferença entre os grupos. O estudo não foi capaz de evidenciar efeito do anlodipino em aumentar a sobrevida ou retardar a evolução da doença, entretanto, o tratamento com este fármaco demonstrou-se seguro para cães com DMVM estágio C e propiciou o uso de doses menores de medicamentos da terapia convencional em comparação ao grupo placebo.

Palavras-chave: Vasodilatadores. Endocardiose. Valvopatia. Terapêutica da insuficiência cardíaca congestiva. Bloqueadores de canal de cálcio.

ABSTRACT

DUARTE, C.N. **Effect of amlodipine in the treatment of heart failure in dogs with myxomatous mitral valve disease**. 2021. 67 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Myxomatous mitral valve disease (MMVD) is the most frequently diagnosed condition in veterinary cardiology practice worldwide. The theoretical principle of the use of amlodipine in the patient with MMVD is the reduction of afterload in order to reduce the regurgitant fraction and, consequently, the volume overload of the left cardiac chambers. The aim of this study was assessing the effect of amlodipine in dogs with MMVD stage C regarding to delay disease progression, increase survival time and improve the quality of life, echocardiographic indexes and clinical parameters. It was a randomized double-blind placebo-control clinical trial, that enrolled dogs with MMVD stage C, treated with standard therapy (furosemide, spironolactone, enalapril and pimobendan) and randomized in two groups, one received amlodipine and the other one placebo. The follow-up time was 10 months. The end points were pulmonary edema, ascites with pleural effusion, progression to stage D and cardiac-related death, and the time to reach each end point was assessed too. Forty dogs were included, 18 in amlodipine group and 22 in placebo group. The mean dose of amlodipine that the treated group received was 0.31 mg/kg once a day. The furosemide mean daily dose of placebo group (6.27 mg/kg/day \pm 2.60) was significantly higher than amlodipine group (4.31 mg/kg/day \pm 2.16, $p=0.041$) only in T7. The placebo group showed progressive increase of furosemide daily mean dose over evaluation times, and the doses at T7 and T9 (6.27 mg/kg/day \pm 2.60 e 5.96 mg/kg/day \pm 2.38) were significantly higher than T1 (4.12 mg/kg/day \pm 2.01, $p=0.004$). The spironolactone mean daily dose was significantly higher in the placebo than amlodipine group at T7 (2.83 mg/kg/day \pm 0.77 vs. 2.16 mg/kg/day \pm 0.41, $p=0.008$) and T9 (2.87 mg/kg/day \pm 0.98 vs. 2.06 mg/kg/day \pm 0.39, $p=0.003$). The placebo group presented difference of the pimobendan mean daily dose among the times of evaluation ($p<0.001$). The arterial blood pressure was lower only at T3 in the amlodipine group (118 mmHg \pm 13.81) than placebo (128 mmHg \pm 20.05, $p=0.028$). Serum creatinine level at T9 in placebo group

was 1.95 mg/dL (± 2.03), significantly higher than basal value (1.21 mg/dL ± 0.40), T7-10 (1.16 mg/dL ± 0.48) and T5 (1.29 mg/dL ± 0.31 , $p=0.002$). Regarding to echocardiogram, DIVEsN at T5 in the placebo group (0.96 ± 0.25) was higher than amlodipine group (0.82 ± 0.29 , $p=0.039$). It was assessed the occurrence, relative risk and mean time in days to reach each end point and there was no difference between groups. This study failed to prove the effect of amlodipine in increase survival time or delay the disease progression. However, the treatment with amlodipine showed be safe for dogs with MMVD stage C and provided the use of lower doses of standard therapy drugs, compared to placebo group.

Keywords: Vasodilators. Endocardiosis. Valvopathy. Therapy of congestive heart failure. Calcium channel blockers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma dos pacientes recrutados para o estudo	39
Figura 2. Gráfico ilustrando a variação da dose média de furosemida (mg/kg/dia) ao longo dos momentos de avaliação, nos grupos anlodipino e placebo	45
Figura 3. Gráfico ilustrando a variação da dose média de espironolactona (mg/kg/dia) ao longo dos momentos de avaliação, nos grupos anlodipino e placebo	46
Figura 4. Gráfico ilustrando a variação da dose média de pimobendan (mg/kg/dia) ao longo dos momentos de avaliação, nos grupos anlodipino e placebo	46
Figura 5. Porcentagem de mudança de alguns índices ecocardiográficos entre os momentos T0 e T5 em cada grupo	53
Figura 6. Gráfico de Kaplan-Meier de sobrevivência de acordo com o grupo nos pacientes que tiveram edema pulmonar cardiogênico	55
Figura 7. Gráfico de Kaplan-Meier de sobrevivência de acordo com o grupo nos pacientes que evoluíram para o estágio D da DMVM	56
Figura 8. Gráfico de Kaplan-Meier de sobrevivência de acordo com o grupo nos pacientes que tiveram morte de causa cardiogênica	56
Figura 9. Gráfico de Kaplan-Meier de sobrevivência de acordo com o grupo nos pacientes que atingiram os desfechos primários combinados (edema pulmonar, evolução para o estágio D da DMVM, ascite e efusão pleural e morte de causa cardiogênica)	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cronograma de atendimentos e realização de exames complementares nos diferentes tempos de avaliação, ao longo dos 10 meses de seguimento do estudo (30 dias de padronização da terapia convencional e nove meses após a randomização e início do tratamento com anlodipino ou placebo)	30
Tabela 2 - Questionário de qualidade de vida (Escore de Insuficiência Cardíaca) baseado em Lombardi et al. (2006)	33
Tabela 3 - Comparação dos parâmetros basais (Tempo 0 - dia 0) entre os dois grupos, antes do início do tratamento com anlodipino ou placebo	40
Tabela 4 - Nota atribuída ao questionário de qualidade de vida pelos proprietários dos cães do estudo, de acordo com o grupo e tempo de avaliação	41
Tabela 5 - Comparação do peso corporal, escore de condição corporal (ECC) e escore de massa muscular (EMM) entre os grupos anlodipino e placebo e entre os momentos de avaliação	42
Tabela 6 - Comparação dos fármacos da terapia convencional (expressos em mg/kg/dia) entre os grupos anlodipino e placebo e entre os momentos de avaliação	44
Tabela 7 - Comparação da pressão arterial e exames laboratoriais entre os grupos anlodipino e placebo e entre os momentos de avaliação	48
Tabela 8 - Comparação dos parâmetros ecocardiográficos entre os grupos anlodipino e placebo e entre os momentos de avaliação	50
Tabela 9 - Média e intervalo de confiança (IC) do tempo (em dias) de ocorrência de cada desfecho primário de acordo com o grupo	55
Tabela 10 - Ocorrência de cada desfecho primário e seu risco relativo de acordo com o grupo	58

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. FISIOPATOGENIA DA DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL	18
2.2. CLASSIFICAÇÃO DA DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL	19
2.3. TRATAMENTO DA DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL	19
2.4. FARMACODINÂMICA E FARMACOCINÉTICA DO ANLODIPINO	23
2.5. EFEITOS DO ANLODIPINO EM HUMANOS E OUTRAS ESPÉCIES ANIMAIS	24
3. HIPÓTESE	26
4. OBJETIVOS	27
4.1. OBJETIVO PRINCIPAL	27
4.2. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	27
5. MATERIAL E MÉTODOS	28
5.1. ANIMAIS	28
5.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS	28
5.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	29
5.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	31
5.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	31
5.6. AVALIAÇÃO CLÍNICA E EXAMES COMPLEMENTARES	32
5.6.1. Questionário de qualidade de vida (Escore de Insuficiência Cardíaca)	32
5.6.2. Exames laboratoriais	32
5.6.3. Avaliação ecocardiográfica	32
5.6.4. Pressão arterial sistólica sistêmica	35
5.6.5. Radiografia de tórax	36
5.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
7. LIMITAÇÕES	60
8. CONCLUSÃO	61
9. BIBLIOGRAFIA	62

1. INTRODUÇÃO

A doença mixomatosa da valva mitral (DMVM) é a afecção cardiovascular mais frequentemente diagnosticada em cães de pequeno porte (BORGARELLI et al., 2012). Por seu caráter crônico e progressivo, o manejo terapêutico tem sido amplamente estudado nas últimas décadas, sobretudo por meio de diversos estudos clínicos baseados no emergente conceito de Medicina Veterinária Baseada em Evidências.

Assim sendo, em 2009 o *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) elaborou as diretrizes para a classificação, diagnóstico e tratamento da DMVM, atualizadas em 2019. Entretanto, algumas possibilidades terapêuticas ainda não possuem comprovação de benefício nos pacientes tratados e, portanto, não há consenso quanto à recomendação ou contra-indicação de uso.

Existem poucos trabalhos que testaram a eficácia do uso do besilato de anlodipino em cães com DMVM, em qualquer um dos estágios da doença. O nível de evidência científica para sua utilização nesse contexto é baixo, pois um dos únicos estudos disponíveis na literatura foi feito de maneira não-cega e não-randomizada (OYAMA; PROSEK; SISSON et al., 2003), apesar de ter demonstrado resultados promissores.

O princípio teórico da utilização do anlodipino no paciente DMVM é a redução da pós-carga, de modo a diminuir a fração regurgitante e, portanto, a sobrecarga de volume tanto do átrio esquerdo quanto do ventrículo esquerdo. Tal redução pode diminuir, em teoria, a possibilidade de fibrilação atrial, devido à desaceleração da dilatação atrial esquerda, e também o estímulo da tosse, em função da diminuição da compressão do brônquio principal esquerdo (ATKINS; HÄGGSTRÖM, 2012).

O uso do anlodipino é recomendado apenas no estágio D da DMVM, ainda que não haja evidência científica contundente que justifique seu uso. É um fármaco comumente utilizado nessa fase da doença em cães, pois aventa-se a possibilidade de que a redução da pós-carga decorrente de seu efeito vasodilatador seja benéfica para a manutenção do débito cardíaco.

Considerando-se todos os efeitos do anlodipino e seus possíveis benefícios no tratamento da DMVM, a pergunta deste estudo foi: cães com DMVM em estágio C tratados com besilato de anlodipino apresentam redução da pós-carga e da

sobrecarga de volume de câmaras cardíacas esquerdas que promoveriam melhora de índices ecocardiográficos, benefícios clínicos e retardo da evolução da doença?

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. FISIOPATOGENIA DA DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL

A doença mixomatosa da valva mitral (DMVM) é a afecção cardiovascular mais frequentemente diagnosticada em cães de pequeno porte (BORGARELLI et al., 2012), principalmente os idosos, sendo aproximadamente 1,5 vezes mais comum em machos do que em fêmeas (ATKINS et al., 2009). A prevalência da DMVM aumenta acentuadamente com o avanço da idade e até 85% dos cães podem demonstrar evidências de lesão à necropsia, quando alcançam 13 anos de idade (BUCHANAN, 2004).

Devido à sua distribuição cosmopolita, a DMVM tem sido alvo de diversas pesquisas por diferentes grupos de estudo, de modo que existem muitas denominações diferentes para esta mesma doença. Algumas destas denominações referem-se ao caráter histológico da afecção, enquanto outras denotam melhor seu curso clínico. Dentre estas designações estão Doença Mixomatosa da Valva Mitral (DMVM), Doença Valvar Crônica de Mitral, Doença Valvar Degenerativa Crônica, Endocardiose de Valva Mitral, entre outras.

A patogenia desta afecção está centrada na degeneração dos folhetos valvares devido à deposição de proteoglicanas e glicosaminoglicanas na matriz extracelular, além da fragmentação da elastina e desorganização do colágeno do tecido valvar (ORTON; LACERDA; MACLEA, 2012). O termo DMVM deriva, portanto, da caracterização histológica da lesão, já que há o surgimento de lesões denominadas mixoides que alteram a estrutura de quatro camadas da valva, aumentando a espessura da camada esponjosa e causando a degeneração da camada fibrosa (RICHARDS et al., 2012).

A desorganização dos folhetos e o enfraquecimento das cordoalhas tendíneas causa prejuízo da função mecânica do aparato valvar (RICHARDS et al., 2012). Devido ao espessamento dos folhetos valvares, que se inicia na extremidade dos mesmos, sua coaptação fica prejudicada, e a sobrecarga de volume atrial induz, com a progressão da doença, a dilatação do ânulo valvar, agravando a insuficiência valvar (FOX, 2012).

Estudos recentes indicam que a gênese do processo degenerativo se relaciona ao controle de vias de sinalização que regulam genes essenciais para a homeostase

da composição da matriz extracelular (ORTON; LACERDA; MACLEA, 2012). Acredita-se que certas vias de sinalização são dependentes de fatores mecânicos e químicos, e ativadas pelo estímulo mecânico à valva.

Além disso, sabe-se que há forte predisposição racial envolvida no desenvolvimento da DVCM, de modo que cães machos e de pequeno porte são mais comumente acometidos. Suspeita-se de um componente genético com herança poligênica, principalmente em cães das raças Dachshund e Cavalier King Charles Spaniel (PARKER; KILROY-GLYNN, 2012). Foram identificados dois *loci* associados à doença em cães da raça Cavalier King Charles Spaniel (MADSEN et al., 2011).

2.2. CLASSIFICAÇÃO DA DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL

A classificação da DMVM mais utilizada atualmente é a do American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM), na qual a doença é dividida em 4 estágios: o estágio A engloba pacientes sem doença cardíaca mas com alto risco de desenvolvê-la, como Cavalier King Charles Spaniel; o estágio B envolve pacientes assintomáticos e é subdividido em B1, que são os cães sem evidência de remodelamento cardíaco ou com remodelamento discreto de átrio ou ventrículo à radiografia e ao ecocardiograma, e B2, cujo os cães já apresentam remodelamento de átrio e ventrículo evidenciados no exame radiográfico ou no ecocardiograma pelo aumento da relação átrio esquerdo/aorta (AE/Ao) e do diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole normalizado para o peso corpóreo (DIVEdN); o estágio C denota pacientes com manifestações clínicas presentes ou passadas de insuficiência cardíaca associada à doença cardíaca estrutural; e o estágio D engloba os cães que apresentam as mesmas condições do estágio C, mas que já se apresentam refratários à terapia convencional (KEENE et al., 2019).

2.3. TRATAMENTO DA DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL

Por seu caráter crônico e progressivo, o manejo terapêutico dessa doença tem sido amplamente estudado nas últimas décadas, sobretudo por meio de diversos

estudos clínicos baseados no emergente conceito de Medicina Veterinária Baseada em Evidências.

Assim sendo, em 2009 o ACVIM elaborou diretrizes para a classificação e tratamento da DMVM, que foram atualizadas em 2019. Entretanto, algumas possibilidades terapêuticas ainda não possuem comprovação de benefício nos pacientes tratados e, portanto, não há consenso quanto à recomendação ou contra-indicação de uso.

Para cães nos estágios A e B1 não há recomendação de tratamento medicamentoso, enquanto para animais no estágio B2 é consenso o uso do pimobendan, visto que o estudo EPIC demonstrou retardo em média de 15 meses na evolução para o estágio C, de cães tratados com pimobendan em comparação ao grupo placebo (BOSWOOD et al., 2016). Entretanto, existem argumentos contra e a favor da terapia com outros tipos de medicamentos no estágio B2 com remodelamento de átrio e ventrículo esquerdo, sendo as drogas potencialmente benéficas citadas por Atkins e Häggström (2012) os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (iECA) e os bloqueadores de receptor mineralocorticoide. O estudo DELAY é uma das publicações mais recentes que avaliou o efeito do uso de benazepril e espironolactona em cães estágio B2, e apesar de falhar em demonstrar retardo da progressão da doença e evolução para o estágio C, teve resultados positivos em relação ao remodelamento cardíaco e biomarcadores cardíacos, visto que o grupo tratado com a associação de benazepril e espironolactona apresentou valores menores de relação AE/Ao, DIVEdN e NT-próBNP, em comparação ao grupo placebo (BORGARELLI et al., 2020).

Há dois outros grandes estudos clínicos prospectivos, duplos-cego e com grupo controle que investigaram a eficácia da terapia medicamentosa com iECA em cães em estágio B da DMVM, sendo estes o *Scandinavian Veterinary Enalapril Prevention Trial (SVEP)* e o *Veterinary Enalapril Trial to Prove Delay in Onset of Failure (VETPROOF)*. Ambos os estudos possuem desenhos similares e consideram como desfecho primário o tempo até o primeiro edema. No entanto, estes estudos demonstraram resultados diferentes, sendo constatado no SVEP que não houve diferença entre o grupo tratado e o grupo placebo no tempo até o diagnóstico de insuficiência cardíaca e nem tampouco na análise de sobrevivência (KVART et al., 2002). Já o estudo VETPROOF não constatou diferença significativa entre os grupos para o desfecho primário, mas numa sub-análise demonstrou benefício do grupo tratado em

relação a mortalidade por todas as causas e no número de cães sem insuficiência cardíaca nos dias 500 e 1500 de acompanhamento (ATKINS et al., 2007).

Os resultados discordantes podem ser relacionados ao fato de que o estudo SVEP incluiu apenas cães da raça Cavalier King Charles Spaniel, tanto com e sem evidência radiográfica de cardiomegalia, além do fato de que a dose utilizada no estudo SVEP foi mais baixa do que aquela aplicada no estudo VETPROOF (0,37 e 0,46 mg/kg a cada 24 horas, respectivamente). No estudo VETPROOF foram incluídos cães de raças variadas, todos com cardiomegalia.

No que diz respeito à classe C, há consenso quanto à utilização de oxigenioterapia, sedação, pimobendan, nitroprussiato e/ou dobutamina em infusão contínua e furosemida, tanto em *bolus* quanto em infusão contínua, no que diz respeito aos pacientes da Classe C1, que requerem tratamento hospitalar intensivo. Não há concordância quanto à utilização ou não de emplastro de nitroglicerina e iECA nesses pacientes. Cita-se o possível uso de hidralazina, mas também não há consenso quanto à essa recomendação. Já no estágio C2, no qual os pacientes com insuficiência cardíaca podem ser tratados em casa, há consenso quanto ao uso de furosemida via oral, iECA, pimobendan e espironolactona, enquanto não há concordância quanto à administração de beta-bloqueadores, entre outros. O anlodipino é citado como um fármaco utilizado por alguns dos autores das diretrizes, mas não há recomendação ou contraindicação para sua aplicação nessa fase da doença (ATKINS et al., 2009; KEENE et al., 2019).

Já a classe D, representada por pacientes refratários à terapia convencional, quando manejados em ambiente hospitalar podem ser tratados de maneira similar aos animais classificados no estágio C1, com a diferença de que nessa fase, o uso de hidralazina e/ou anlodipino é indicado, com consenso entre os autores.

No que tange à Classe D2, constituída por pacientes refratários tratados em casa, indica-se o uso de furosemida, com aumento na frequência de administração ou com a substituição de uma das doses diárias por aplicação subcutânea, substituição da furosemida pela torsemida, administração do pimobendan a cada 8 horas, além de manter o iECA e espironolactona. Em relação ao anlodipino, não há recomendação de aplicação ou contraindicação do mesmo, devido à falta de evidência científica para a utilização desse fármaco.

Existem poucos trabalhos que testaram a eficácia do uso do besilato de anlodipino em cães com DMVM, em qualquer um dos estágios da doença. O nível de

evidência científica para sua utilização nesse contexto é baixo, pois um dos poucos estudos disponíveis na literatura foi feito de maneira não cega e não randomizada (OYAMA; PROSEK; SISSON, 2003), apesar de ter demonstrado resultados promissores.

O princípio teórico da utilização do anlodipino no paciente com valvopatia de mitral é a redução da pós-carga, de modo a diminuir a fração regurgitante e, portanto, a sobrecarga de volume tanto do átrio esquerdo quanto do ventrículo esquerdo. Tal redução pode diminuir, em teoria, a possibilidade de fibrilação atrial, devido à desaceleração da dilatação atrial esquerda, e também o estímulo da tosse, em função da diminuição da compressão do brônquio principal esquerdo (ATKINS; HÄGGSTRÖM, 2012).

Por sua ação vasodilatadora, o besilato de anlodipino aumenta reflexamente a frequência cardíaca e possui, também, efeito inotrópico positivo, de modo a aumentar o débito cardíaco (BURGES; DODD; GARDINER, 1989), outro aspecto que justifica sua utilização em pacientes com insuficiência cardíaca. Sua utilização é recomendada em pacientes refratários à terapia convencional da DMVM, mas não há estudos avaliando sua aplicabilidade em pacientes no estágio C da doença.

Um estudo conduzido por Oyama, Prosek e Sisson (2003) revelou que cães com DMVM tratados com anlodipino apresentam redução de cerca de 10% da pressão sistólica, diminuição de 21% do volume regurgitante mitral e redução de 15% da fração regurgitante mitral. Esses cães também apresentaram diminuição significativa do diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo, quando comparado com os valores desses parâmetros antes do início do tratamento.

Suzuki e colaboradores (2012) observaram diminuição da pressão atrial esquerda e da razão entre a área de máxima regurgitação do jato e área atrial esquerda após o tratamento de cães com insuficiência mitral cirurgicamente induzida, utilizando 0,2 mg/kg de anlodipino a cada 12 horas.

A principal restrição à utilização do anlodipino em pacientes com DMVM é a possível ativação do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) nos mesmos, devido à alteração do fluxo sanguíneo renal secundária à vasodilatação e queda da pressão arterial sistêmica (PAS) ocasionadas pelo fármaco. Sabe-se que a ativação crônica do SRAA é prejudicial aos cães valvopatas, por determinar retenção de sódio, vasoconstrição, estímulo simpático e aumento do volume plasmático, além de fibrose miocárdica, podendo agravar o processo de insuficiência cardíaca.

Atkins et al. (2007) demonstraram que o tratamento com anlodipino, no limite de dose superior (0,57 mg/kg a cada 12 horas), em cães adultos normais ocasiona ativação do SRAA, evidenciado pelo aumento da excreção de aldosterona urinária em até três vezes. Porém, o uso de iECA como o enalapril, em associação com a amlodipina, bloqueia o SRAA e normaliza o nível de aldosterona. Devido a isso, tais autores sugerem que a administração de amlodipina a pacientes hipertensos ou com insuficiência cardíaca seja acompanhada por iECA, bloqueadores de receptores de aldosterona (espironolactona), bloqueadores de receptores de angiotensina ou por alguma combinação desses fármacos.

Dessa forma, faltam evidências científicas que comprovem que o uso do anlodipino favoreça ou prejudique o desfecho de cães com DMVM, em qualquer estágio da doença. Hipotetiza-se que a ativação do SRAA possa ocorrer nesses pacientes, mas também se aventa a possibilidade de que a redução da pós-carga possa trazer benefícios clínicos evidentes, desacelerando a progressão da doença.

2.4. FARMACODINÂMICA E FARMACOCINÉTICA DO ANLODIPINO

O anlodipino é uma dihidropiridina de segunda geração e pertence à família dos bloqueadores de canais de cálcio. Em medicina veterinária sua principal aplicação é no controle da hipertensão arterial sistêmica, sobretudo em felinos (SNYDER; SADEK; JONES, 2001).

Os bloqueadores de canais de cálcio em geral têm seu mecanismo de ação baseado na diminuição do influxo de cálcio intracelular, determinando a inibição da atividade do nó sinoatrial e da condução atrioventricular, além da redução do inotropismo cardíaco e da contratilidade dos vasos. O anlodipino, no entanto, tem ação maior sobre os vasos e menor sobre os miócitos, de modo que alguns o classificam como “vaso-seletivo” (TISSIER; PERROT; ENRIQUEZ, 2005). Sua ação baseia-se no bloqueio seletivo de canais de cálcio do tipo L, o que promove relaxamento da musculatura lisa vascular (BURGES; MOISEY, 1994; YAMADA et al., 1994), sendo que a sua ação é mais significativa nas artérias e pouco importante nas células excitáveis do tecido miocárdico, exercendo assim, efeitos mínimos sobre a contratilidade miocárdica (BURGES; MOISEY, 1994; NORDLANDER et al., 1995).

Outros mecanismos pelos quais ele causa vasodilatação é por meio da ativação da óxido nítrico sintase (ZHANG; HINTZE et al., 1998) e pela redução dos níveis de endotelina, um peptídeo que possui potente efeito vasoconstritor (KRAMER et al., 1992). Em suínos com ICC, o anlodipino reduz 40% o nível plasmático de endotelina, em comparação com animais não tratados (KROMBACH et al., 1999).

No pH fisiológico (7,4), o grupo amina é ionizado dando a sua molécula uma carga positiva. Essa carga é responsável pelas propriedades únicas do anlodipino, que o difere dos outros bloqueadores de canais de cálcio, mesmo aqueles pertencentes a sua própria classe (KWAN; BANGALORE; LAKITSH, 1995). Estudos mostram que o anlodipino se liga e dissocia dos receptores de forma mais lenta do que a nifedipina (YAMADA et al., 1994; KWAN; BANGALORE; LAKITSH, 1995). Isso confere ao anlodipino um início de ação mais lento e efeito com duração mais longa em comparação as outras drogas da classe das dihidropiridinas (COOKE; SNYDER, 1998).

Em cães, os parâmetros farmacocinéticos do anlodipino são conhecidos por meio de estudos conduzidos na década de 80 (STOPHER et al., 1988). A dose do anlodipino para cães varia de 0,2 mg/kg/dia (SNYDER; COOKE, 2005) a 1,0 mg/kg/dia (BROWN, 1997) por via oral. Sabe-se que a meia-vida plasmática desse fármaco é de 30 horas e que o tempo até a obtenção da concentração plasmática máxima é de 6 horas, sendo que há também um efeito cumulativo, de modo que um platô plasmático é atingido após uma a duas semanas de uso (TISSIER; PERROT; ENRIQUEZ, 2005). A biodisponibilidade do fármaco, quando administrado aos cães por via oral, é de 88%. A metabolização do anlodipino é realizada principalmente no fígado, por reações de fase I, e os metabólitos resultantes não são ativos (TISSIER; PERROT; ENRIQUEZ, 2005). Sua eliminação é feita por meio da urina e das fezes (NELSON; COUTO, 2015).

2.5. EFEITOS DO ANLODIPINO EM HUMANOS E OUTRAS ESPÉCIES ANIMAIS

Em estudos experimentais com suínos, nos quais foi induzida insuficiência cardíaca com aumento da frequência cardíaca por marca-passo artificial, o anlodipino contribui para uma melhor função ventricular esquerda por reduzir a pós-carga e aumentar o fluxo sanguíneo no miocárdio, além de melhorar também o fluxo

sanguíneo renal e pulmonar. Em relação aos parâmetros ecocardiográficos, os suínos tratados com anlodipino tiveram uma redução no diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo e aumento da fração de encurtamento, quando comparados com o grupo não tratado (KROMBACH et al., 1999; McELMURRAY et al., 2001). Além disso, o volume sistólico ejetado pelo ventrículo esquerdo foi 50% maior e o débito cardíaco 30% maior nos porcos tratados com anlodipino em comparação com os animais não tratados (KROMBACH et al., 1999).

A infusão intravenosa de altas doses de amlodipina em ratos reduz a pressão arterial sistêmica em 12 mmHg e não altera o fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular. Entretanto, aumenta o fluxo urinário e a excreção renal de sódio, demonstrando assim que além do seu efeito vasodilatador, ela também pode causar diurese e natriurese (JOHNS, 1988).

Além do efeito vasodilatador, os bloqueadores de canais de cálcio reduzem a fibrose miocárdica em ratos hipertensos (SUSIC; VARAGIC; FROHLICH, 1999), previnem a fibrose renal (EPSTEIN, 1998) e diminuem a deposição de colágeno na matriz extracelular em cultura de fibroblastos de humanos (ROTH et al., 1996). O anlodipino também pode provocar vasodilatação coronariana e, em ratos, comprovou efeito em desacelerar a hipertrofia e o remodelamento vascular (SHARIFI; ENDEMANN; SCHIFFRIN, 1998).

Packer e colaboradores (1996), em um estudo clínico com pacientes humanos com insuficiência cardíaca, observaram que o grupo tratado com amlodipina apresentou uma redução de 16% no risco de morte e 9% no risco de desenvolver eventos cardiocirculatórios primários (edema pulmonar, infarto do miocárdio e taquiarritmias ventriculares) em comparação ao grupo placebo. Quando esses mesmos pacientes foram subdivididos em um grupo que apresentava insuficiência cardíaca secundária a causas isquêmicas e outro grupo secundária a causas não-isquêmicas (cardiomiopatia dilatada primária), o grupo de causas não-isquêmicas apresentou redução de 46% no risco de morte e 31% no risco de desenvolver eventos cardiocirculatórios primários, em comparação ao grupo placebo.

Em geral, tanto no que tange à utilização desse fármaco em animais com insuficiência cardíaca, quanto em animais hipertensos, faltam estudos clínicos que comprovem seus benefícios, sendo o nível de evidência científica para sua aplicação baixo e, por vezes, baseado na experiência pessoal do profissional.

3. HIPÓTESE

A redução da pós-carga com anlodipino representa uma estratégia terapêutica importante em animais no estágio D da valvopatia crônica de mitral, ainda que não haja evidência científica clara de seus benefícios. Não há consenso quanto ao seu uso em outros estágios da doença, pois se aventa a possibilidade de que possa ocorrer a ativação do SRAA, decorrente do efeito vasodilatador do fármaco. Dada a ausência de trabalhos científicos que comprovem os efeitos da terapia com anlodipino em cães com DMVM no estágio C da doença, este estudo avaliou os efeitos desse tratamento, associado à terapia convencional, de maneira controlada, prospectiva e randomizada.

Desse modo, a hipótese deste estudo foi que cães com DMVM em estágio C tratados com besilato de anlodipino apresentariam redução da fração regurgitante mitral e aumento do volume sistólico ejetado e débito cardíaco, o que levaria a diminuição da sobrecarga de volume em câmaras cardíacas esquerdas, retardo da progressão da doença e, conseqüentemente, aumento da sobrevida.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Avaliar o efeito do tratamento com besilato de anlodipino em cães com diagnóstico de DMVM estágio C, em relação ao retardo da evolução da doença e redução do risco de desenvolver insuficiência cardíaca congestiva esquerda.

4.2. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Avaliar parâmetros clínicos de acompanhamento do tratamento com besilato de anlodipino em cães com DMVM, como o número de edemas pulmonar durante o período deste estudo, necessidade de ajuste de doses de medicações, bem como a qualidade de vida sob a forma de questionário aplicado aos proprietários.

Avaliar o efeito do besilato de anlodipino na redução de sobrecarga hemodinâmica de cães com DMVM, por meio de índices ecocardiográficos como: fração regurgitante mitral, volume ejetado aórtico e débito cardíaco.

Avaliar através do ecocardiograma se o tratamento com besilato de anlodipino retarda o grau de remodelamento de câmaras cardíacas esquerdas, em cães com DMVM.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. ANIMAIS

Foram incluídos cães de pequeno porte, machos e fêmeas de raças variadas com DMVM estágio C, de acordo com a classificação do ACVIM (2019). Os animais foram triados pelo Serviço de Cardiologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET-FMVZ-USP). Os proprietários que aceitaram participar do estudo, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, elaborado pelos pesquisadores responsáveis e aprovado previamente pela Comissão de Ética e Uso de Animais (CEUA nº 7635010716) da FMVZ-USP.

A triagem dos cães foi feita de acordo com os critérios de inclusão e de exclusão citados nas seções subsequentes, além disso, foi realizada uma seleção subjetiva de proprietários que estavam de fato comprometidos com o estudo, explicitando-se os objetivos do ensaio clínico em questão e a potencial agregação de conhecimento relacionado ao tratamento da DMVM em cães.

5.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os cães triados que foram considerados elegíveis a participar do estudo foram randomizados em 2 grupos: placebo ou anlodipino. A randomização foi realizada no software Microsoft Excel, utilizando-se a função “aleatório”, na qual foi gerada uma lista aleatória com o número do animal com duas possibilidades de grupos (A - anlodipino ou B - placebo) correspondente a cada número, sendo que a ordem de entrada dos cães no estudo seguiu esta lista, o que determinou se o paciente era agrupado em A ou B. Todos os pesquisadores envolvidos no estudo não tinham conhecimento de qual dos grupos, A e B, correspondiam ao placebo ou anlodipino, apenas a farmacêutica (que manipulava os frascos de anlodipino e placebo) e a Profa. Dra. Márcia de Oliveira Sampaio Gomes (orientadora) detinham esta informação. Os cães do grupo tratado receberam uma cápsula por dia de besilato de amlodipino nas doses: 1,0 mg para cães de 3,0 a 3,9 kg, 1,5 mg para cães de 4,0 a 5,9 kg, 2,2 mg para cães de 6,0 a 8,5 kg e 3,2 mg para cães de 8,6 a 12,0 kg. Os cães do grupo

placebo receberam uma cápsula por dia de placebo (talco), idêntica as cápsulas do grupo tratado.

Todos os cães (do grupo placebo e do grupo anlodipino), no momento de inclusão no estudo, estavam em tratamento com terapia convencional: furosemida, enalapril, espironolactona e pimobendan. Após a randomização e início do tratamento com anlodipino ou placebo, era permitido o reajuste das doses dos medicamentos da terapia convencional de acordo com a necessidade de cada paciente (caso o cão apresentasse sintomas de congestão, evolução da doença ou edema pulmonar agudo). A dose de anlodipino ou placebo permaneceu a mesma durante todo o período que os animais participaram do estudo e não era permitido o uso crônico de nenhum outro tipo de medicamento para tratamento da ICC, como diuréticos tiazídicos, venodilatadores, arteriodilatadores e vasodilatadores pulmonares. O uso de fármacos antiarrítmicos era permitido apenas para os pacientes que desenvolviam fibrilação atrial ou taquiarritmias ventriculares que necessitavam de tratamento.

Para os pacientes que desenvolveram edema pulmonar cardiogênico e que não tiveram resposta satisfatória ao tratamento com furosemida, foi permitido o uso de nitroprussiato, dobutamina e isossorbida até a resolução do quadro, e o uso de anlodipino no tratamento do edema pulmonar agudo não era permitido (entretanto, os cães continuavam recebendo as cápsulas de anlodipino ou placebo durante o tratamento do edema, de acordo com o grupo o qual foram randomizados no início do estudo).

5.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Este foi um estudo clínico prospectivo, randomizado, duplo-cego e placebo-controle. Os animais passaram por período de 30 dias de adaptação à medicação recomendada (terapia convencional), de modo que o tratamento pregresso com medicações diversas não representasse um viés de avaliação do estudo. Após tal período, os cães foram randomizados para um dos dois grupos experimentais, iniciando-se a terapia com anlodipino ou placebo (T0) e após sete a 10 dias (T7-10) os cães foram reavaliados com o objetivo de identificar o aparecimento de eventuais efeitos colaterais do tratamento. Os cães que apresentassem hipotensão ou azotemia com manifestações clínicas de crise urêmica nesta primeira avaliação, eram retirados

do estudo. Os animais foram acompanhados por um período de nove meses e passaram por avaliação um mês após a randomização (T1) e depois a cada dois meses (T3, T5, T7 e T9), até completarem os nove meses de acompanhamento (Tabela 1).

Tabela 1. Cronograma de atendimentos e realização de exames complementares nos diferentes tempos de avaliação, ao longo dos 10 meses de seguimento do estudo (30 dias de padronização da terapia convencional e nove meses após a randomização e início do tratamento com anlodipino ou placebo).

	T -30 dia -30	T 0 dia 0	T 7-10 dia 7-10	T 1 1 mês	T 3 3 meses	T 5 5 meses	T 7 7 meses	T 9 9 meses
Anamnese e exame físico	X	X	X	X	X	X	X	X
Pressão arterial sistêmica	X	X	X	X	X	X	X	X
Perfil hepático e hemograma	X							
Ecocardiograma	X	X		X		X		X
Questionário QV		X		X		X		X
Perfil renal	X	X	X		X		X	X
Sódio e potássio		X		X		X		X
Exame de urina e RPCU		X		X		X		X

Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: QV – qualidade de vida; RPCU – relação proteína/creatinina urinária.

Foi considerado como desfecho primário o edema pulmonar cardiogênico, ascite associada a efusão pleural devido a ICC direita (secundária a hipertensão pulmonar causada pela evolução da DMVM), evolução para o estágio D da DMVM ou óbito devido à causa cardiogênica. Os cães que apresentavam um destes desfechos (exceto morte por qualquer causa) não eram retirados do estudo, podendo um mesmo animal apresentar nenhum, um ou mais desfechos ao longo do período de acompanhamento. Dessa forma, a soma do total de desfechos não equivale ao total de animais do estudo.

O edema pulmonar cardiogênico foi diagnosticado quando o cão apresentava manifestações clínicas como tosse, taquipneia, dispneia, ortopneia, cianose e síncope, associadas a achados de exame físico (como crepitação pulmonar), exame

radiográfico (como padrão intersticial ou interstícioalveolar, dilatação de veias pulmonares) e alteração dos índices preditivos de aumento da pressão do AE no ecocardiograma (relação E/TRIV, onda E, padrão diastólico pseudonormal ou restritivo, relação E/E', dilatação de veias pulmonares). A ascite e efusão pleural foram diagnosticadas por meio da ultrassonografia de abdômen ou de tórax, respectivamente.

Segundo o ACVIM (2019), foi considerado que o animal evolui para o estágio D quando para mantê-lo estabilizado era necessário: uma dose maior do que 8 mg/kg/dia de furosemida; ou realizar a troca da furosemida pela torsemida; ou pimobendan em dose de 0,3 mg/kg a cada 8 horas ou doses maiores; ou utilização de antiarrítmicos devido ao desenvolvimento de fibrilação atrial.

Foi considerado morte cardiogênica causas como edema pulmonar, taquiarritmias ventriculares e choque cardiogênico.

5.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Cães de pequeno porte (até 12,0 kg), machos e fêmeas, de raças variadas, com DMVM estágio C (KEENE et al., 2019), associada ou não à insuficiência de tricúspide.

5.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Cães com:

- Comorbidades sistêmicas graves (doenças endócrinas, neoplasias, insuficiência hepática, entre outras);
- Hipotensão ou hipertensão;
- Outras cardiopatias congênitas ou adquiridas associadas;
- Doença renal crônica estágio III ou IV de acordo com o *IRIS Staging System of CKD* (2019).

5.6. AVALIAÇÃO CLÍNICA E EXAMES COMPLEMENTARES

Todos os cães foram submetidos a anamnese, exame físico, exames laboratoriais, mensuração de pressão arterial sistêmica e ecocardiograma, além do questionário de qualidade de vida que foi aplicado aos proprietários. Como parte do exame físico, foi realizado a pesagem e avaliação do escore de condição corporal (ECC) e escore de massa muscular (EMM) por meio da palpação e inspeção, em todos os tempos, para avaliar a evolução da condição corporal dos animais ao longo do estudo. O ECC foi classificado utilizando-se o sistema de nove pontos, proposto por Laflamme (1997), no qual os escores 1 a 3 é atribuído aos cães magros, os escores 4 e 5 representam condição corporal ideal, os escores 6 e 7 indicam sobrepeso e os escore 8 e 9 representam os cães obesos. O EMM utiliza a escala de 0 a 3, onde o escore 3 é atribuído a animais com adequada condição muscular e os escores 2, 1 e 0 representam perda discreta, moderada e grave de massa muscular, respectivamente, segundo Michel et al. (2011) e Freeman et al. (2011).

Os tempos do estudo em que cada exame complementar ou avaliação clínica foram realizados estão indicados na tabela 1.

5.6.1. Questionário de qualidade de vida (Escore de Insuficiência Cardíaca)

Os animais foram avaliados por meio de questionário de qualidade de vida, baseado em Lombard, Jöns e Bussadori (2006). Os proprietários receberam uma tabela contendo uma escala numérica para quantificação de indicativos de eficácia terapêutica, conforme ilustrado na Tabela 2.

5.6.2. Exames laboratoriais

Os cães foram avaliados, laboratorialmente, por meio do hemograma, avaliação de atividade das enzimas hepáticas, dosagem sérica de ureia, creatinina, proteína total, albumina e eletrólitos (sódio e potássio), e exame de urina com relação proteína/creatinina urinária (RPCU).

5.6.3. Avaliação ecocardiográfica

Os exames ecocardiográficos foram realizados por duas médicas veterinárias treinadas, que não tiveram acesso aos dados da ficha clínica dos pacientes e não sabiam qual tratamento (besilato de anlodipino ou placebo) os cães recebiam. Todos

os parâmetros ecocardiográficos analisados de todos os exames realizados neste estudo, foram mensurados três vezes e foi calculado a média aritmética para posterior análise estatística.

Tabela 2. Questionário de qualidade de vida (Escore de Insuficiência Cardíaca) baseado em Lombardi et al. (2006).

VARIÁVEL	ESCORE	CORRELAÇÃO CLÍNICA
Tolerância ao exercício	1 (muito boa)	Cão se move com facilidade, se exercita plenamente
	2 (boa)	Cão se move com facilidade, mas não se exercita plenamente – tende a correr menos
	3 (moderada)	Cão está menos ativo do que o normal, caminha poucas vezes por dia, evita caminhadas
	4 (ruim)	Cão está inativo e só se levanta para comer, beber água e urinar
Comportamento	1	Alerta, responsivo
	2	Um pouco mais quieto
	3	Moderadamente mais quieto
	4	Minimamente responsivo
	5	Irresponsivo
Apetite	1	Aumentado
	2	Normal
	3	Diminuído (2/3 do normal)
	4	Muito diminuído (> 2/3 do normal)
Esforço respiratório	1	Normal
	2	Um pouco aumentado
	3	Dificuldade presente
	4	Angústia respiratória
Tosse	1	Ausente
	2	Ocasional
	3	Frequente
	4	Persistente
Dispneia noturna	1	Nenhuma
	2	Tosse noturna ocasional, mas não apresenta falta de ar e nem dificuldade de dormir
	3	Cão tosse persistentemente, esforço respiratório aumentado e dificuldade em dormir

Fonte: DUARTE (2021).

Para a realização do ecocardiograma transtorácicos, os animais foram posicionados em decúbito lateral por meio de contenção física, sem sedação ou anestesia, conforme recomendações da American Society of Echocardiography, com modificações sugeridas por Chetboul (2002) e Boon (2011), utilizando o equipamento GE® modelo Vivid i (GE Medical Systems, Milwaukee, WI, USA), nos modos bidimensional, M, Doppler (pulsado, contínuo, colorido e tecidual) com registro simultâneo do eletrocardiograma (ECG).

Foi avaliada a função diastólica do ventrículo esquerdo (VE) com base nos padrões do fluxo transmitral, nos modos Doppler pulsado e Doppler tecidual, utilizando-se as relações E/A e E/E', tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e relação E/TRIV, parâmetros avaliados no corte apical quatro câmaras na janela paraesternal esquerda (SCHOBER et al., 2010). Neste mesmo corte, foi obtido imagens do jato regurgitante mitral, utilizando-se o Doppler contínuo. O feixe de ultrassom foi alinhado de forma paralela ao jato regurgitante e a linha de base e escala ajustadas para maximizar o registro Doppler espectral. Para a mensuração dos valores de +dP/dt, o registro do Doppler contínuo do jato regurgitante da mitral foi ajustado a uma velocidade de varredura de 200 mm/s, determinando-se a seguir a inclinação do segmento espectral correspondente à velocidade de 1 a 3 m/s (KOLIAS; AARONSON; ARMSTRONG, 2000). Ainda no corte apical quatro câmaras, foi mensurado o diâmetro do anel mitral no início da diástole (um frame após a abertura total da valva mitral), para determinar seu raio, utilizado no cálculo da área do anel mitral.

A mensuração dos diâmetros internos do VE, diastólico (DIVEd) e sistólico (DIVEs), foi feita pelo modo M, no corte transversal ao nível dos músculos papilares, na janela paraesternal direita, e foram calculados o DIVEdN e o DIVEs normalizado (DIVEsN) de acordo com Cornell et al. (2004). Ainda nesta janela, ao nível da base cardíaca, foi mensurado as dimensões do AE e Ao, a área tracejada do anel aórtico e foi calculada a relação AE/Ao (HANSSON et al., 2002).

A partir das mensurações realizadas nos exames ecocardiográficos, foram calculadas a fração regurgitante mitral, volume ejetado aórtico, volume ejetado mitral e débito cardíaco, a partir das seguintes fórmulas:

$$\text{Vej} = \text{VTI} \times \text{Aov} \quad \text{DC} = \text{Vej} \times \text{FC} \quad \text{FRm} = \frac{\text{Vejm} - \text{VejAo}}{\text{Vejm}} \times 100$$

$$\text{Aovm} = \pi \times r^2$$

Vej: volume ejetado	DC: débito cardíaco
VTI: integral de velocidade	FC: frequência cardíaca
Aov: área do orifício valvar	FRm: fração regurgitante mitral
Aovm: área do orifício valvar mitral	Vejm: volume ejetado mitral
π : valor de pi (aproximadamente 3,14)	VejAo: volume ejetado aórtico
r: raio de orifício valvar	

Os VTIs aórtico e mitral foram calculados pelo software do aparelho de ecocardiograma a partir do tracejado de toda a borda externa do fluxo aórtico e transmitral (ondas E e A), respectivamente. Para comparar o VejAo e DC sem o viés de variação de tamanho dos cães do estudo (2 kg a 12,6 kg), esses parâmetros foram indexados ao peso corporal (iP): VejAoiP e DCiP.

5.6.4. Pressão arterial sistólica sistêmica

A determinação da pressão arterial sistólica (PAS) foi realizada pelo método não invasivo por meio do dispositivo de Doppler ultrassonográfico, utilizando-se aparelho da marca Parksmedical®, modelo 811-B (Aloha, Oregon, Estados Unidos da América).

Os animais foram colocados em decúbito lateral direito, foram utilizados manguitos do tipo neonatal de diversas larguras, escolhidos conforme a circunferência do membro torácico, colocados no terço médio da região rádio-ulnar, de acordo com Acierno et al. (2018). Foram realizadas cinco mensurações consecutivas, considerando a média aritmética dos valores obtidos.

Previamente à mensuração da PAS, determinou-se a circunferência do membro do animal ao nível do terço médio do rádio-ulna, para escolha de manguito adequado, com largura correspondente a 40% da circunferência do membro. O transdutor foi posicionado entre os coxins do carpo e metacarpo, sobre a região da artéria medial, iniciando-se a insuflação do manguito até a interrupção do pulso. A PAS é caracterizada no momento do retorno da percepção do pulso (ao desinflar o manguito), de acordo com metodologia já estabelecida (WARE, 2011).

5.6.5. Radiografia de tórax

Os exames radiográficos de tórax foram realizados no momento de triagem dos pacientes para identificar o edema pulmonar ou sinais de congestão, auxiliando no diagnóstico e classificação do estágio C da DMVM. Também foi feita a radiografia para confirmar o diagnóstico de edema pulmonar cardiogênico sempre que os pacientes apresentaram manifestações clínicas condizentes, durante o período de acompanhamento no estudo. Foram realizadas radiografias computadorizadas utilizando-se o sistema de radiografia computadorizada Fuji com leitor de placas de fósforo FCR cápsula X e cassetes com placas de fósforo como detector de raios X. Foi utilizado equipamentos radiológicos (RAY-TEC, 500 mA e 125 kV, modelo RT 500/125 e Tecno Designer, alta frequência, TD 500 HF) com mesa radiológica portando grade antidifusora. Este equipamento possui uma estação de trabalho Synapse com servidor Dell Power Edge 840 para identificação e controle de qualidade: CR CONSOLE LITE, e um monitor LCD de 21" colorido. Os cães foram posicionados em decúbito lateral direito (projeção látero-lateral esquerda), decúbito lateral esquerdo (projeção látero-lateral direita) e decúbito dorsal (projeção ventro-dorsal), com a realização de, no mínimo, três projeções. As radiografias torácicas foram avaliadas subjetivamente e pelo método VHS (*Vertebral Heart Size*), propostas por Buchanan e Bücheler (1995).

5.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística, inicialmente, foi realizada análise descritiva dos dados com estimativa de média, mediana, desvio padrão e intervalo interquartil das variáveis quantitativas e frequências simples e relativas das variáveis qualitativas. Para avaliar as variáveis quantitativas, primeiramente, foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk para determinação da abordagem paramétrica e não paramétrica. Para as variáveis com distribuição normal, a diferença entre os grupos em cada momento (anlodipino e placebo) foi verificada com o teste T de Student. Para as variáveis sem distribuição normal, esta diferença foi verificada com o teste U de Mann-Whitney. Para avaliação das diferenças entre momentos em cada grupo, para as variáveis com distribuição normal foi utilizada a ANOVA de medidas repetidas, seguida de Bonferroni como post-hoc ou Friedman para as variáveis sem distribuição normal, seguida do teste de Dunn como post-hoc.

Para avaliação da associação entre a ocorrência dos desfechos e o uso das medicações, foi utilizado o teste de qui-quadrado ou exato de Fisher. Para avaliar a intensidade das associações, foi estimado risco relativo (RR) com intervalo de confiança de 95%. Ainda sobre a ocorrência dos desfechos, curvas de Kaplan-Meier foram produzidas para estimativa do tempo de ocorrência de cada desfecho e sua diferença entre o grupo anlodipino e placebo foi verificada com o teste de Breslow.

Todos os testes foram considerados significativos quando $p < 0,05$ e tendência quando $p > 0,05$ e $< 0,10$. As análises foram realizadas no ambiente R (R Core Team, 2019).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

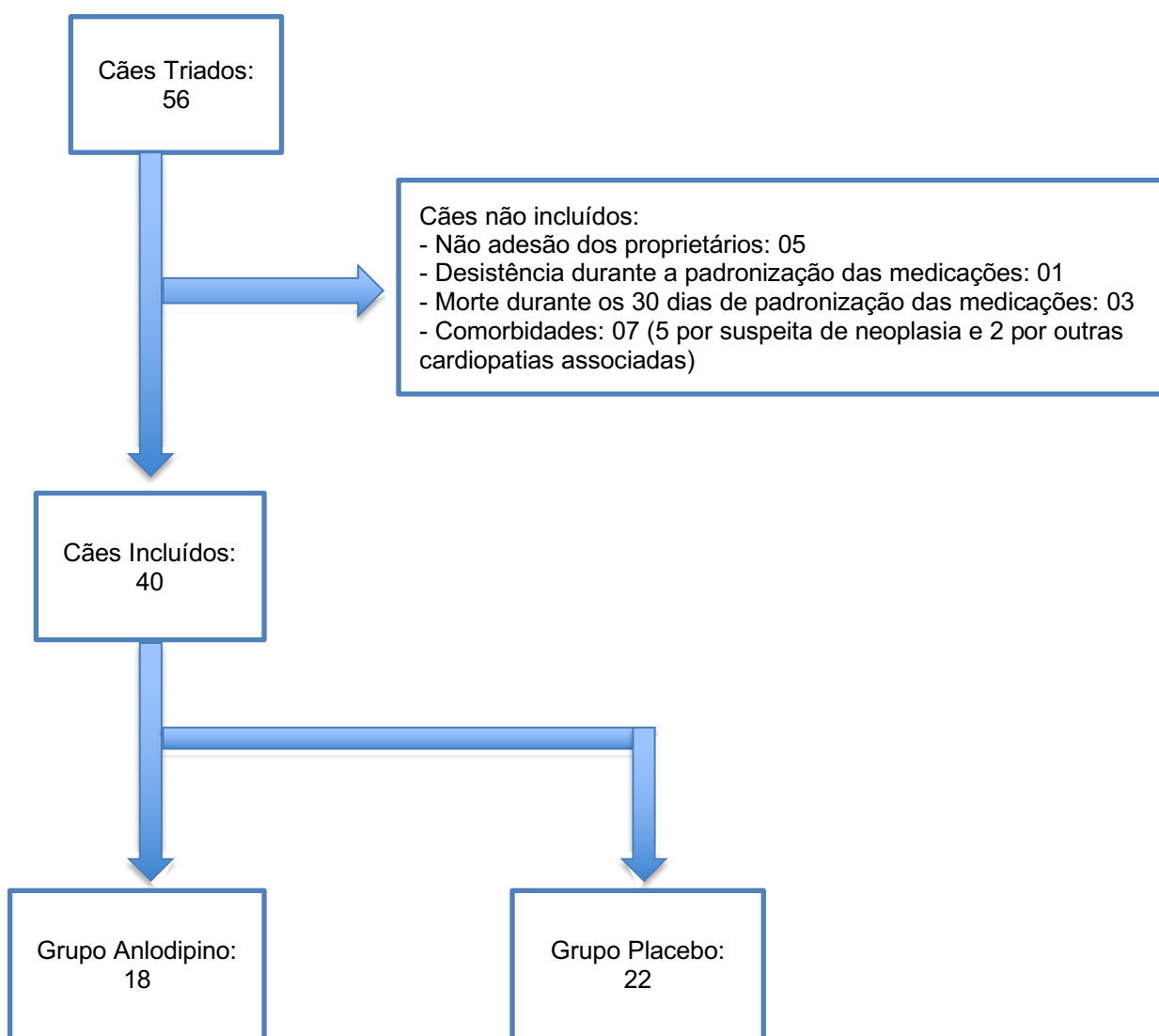
Foi realizado a avaliação da normalidade para todos os parâmetros analisados, sendo que a idade, peso, relação AE/Ao, DIVEdN, DIVEsN e onda E apresentaram distribuição normal e todos os outros parâmetros (ecocardiográficos, ECC, EMM, dose dos medicamentos, exames laboratoriais, PAS e questionário de qualidade de vida) tiveram distribuição não-paramétrica. Para facilitar a interpretação em comparação dos resultados obtidos, optou-se por apresentar os resultados expressos na forma de média e desvio padrão para todas as variáveis analisadas.

Foram recrutados 56 cães com DMVM estágio C durante o período de julho de 2017 a março de 2019, que atendiam aos critérios de inclusão, dos quais 16 foram retirados do estudo por motivos diversos e 40 foram realmente incluídos, sendo 18 cães randomizados para o grupo anlodipino e 22 para o grupo placebo (Figura 1). Os grupos foram comparados no T0 e não houve diferença estatística para nenhum dos parâmetros avaliados, o que demonstrou que os grupos eram homogêneos no momento da randomização (Tabela 3). A raça Poodle foi a mais prevalente, compondo 25% (n=10) do total de animais do estudo, seguida por Dachshund, Yorkshire Terrier e Pinscher que representaram 10% (n=4) cada, Shih Tzu 7,5% (n=3), Maltês e Chihuahua 2,5% (n=1) cada, porém, os cães sem raça definida foram os que tiveram maior representatividade com 32,5% (n=13). Em relação ao gênero, 60% dos cães eram machos (n=24) e 40% fêmeas (n=16). A idade média foi de 11,7 anos (5 a 19 anos) e o peso médio 6,6 kg (2 a 12,6 kg), no dia de inclusão no estudo (dia 0). A DMVM é frequentemente diagnosticada em cães idosos de pequeno porte (BORGARELLI et al., 2012) e atinge a prevalência de até 85% nos cães com 13 anos de idade (BUCHANAN, 2004), sendo mais comum em machos, o que corrobora com os dados obtidos neste estudo.

No que concerne a avaliação de qualidade de vida, não houve diferença entre os grupos e entre os tempos em cada grupo (Tabela 4). Questionários aplicados a proprietários de cães com doença cardíaca são uma boa ferramenta para avaliar a qualidade de vida destes pacientes (FREEMAN et al., 2005; LOMBARD; JÖNS; BUSSADORI, 2006). Quanto menor o escore total da soma das seis perguntas do questionário, melhor é a qualidade de vida do paciente. Esperava-se que o grupo anlodipino apresentasse nota média menor do que o grupo placebo e que a nota aumentasse com o passar dos tempos em ambos os grupos, devido a evolução da

doença estar relacionada com uma maior dificuldade em se controlar as manifestações clínicas e piora da qualidade de vida. O questionário utilizado continha apenas seis questões, as quais visavam avaliar ICC. Isso pode ter contribuído para não detecção de diferença estatística. Questionários mais abrangentes e com um número maior de perguntas, como proposto por Freeman e colaboradores (2005) com 26 questões, podem ter uma sensibilidade maior para detectar alterações na qualidade de vida.

Figura 2 – Fluxograma dos pacientes recrutados para o estudo.



Fonte: DUARTE (2021).

A condição corporal, avaliada por meio do peso corporal, ECC e EMM, não teve diferença entre os grupos em todos os tempos e entre os momentos de avaliação de cada grupo (Tabela 5). Entretanto, no T1 (tempo 1 – um mês após a randomização e

início do tratamento) houve uma tendência do peso corporal do grupo placebo (6,87 kg \pm 2,53) ser maior do que do grupo anlodipino (5,58 kg \pm 2,88, p=0,086).

Tabela 3. Comparação dos parâmetros basais (Tempo 0 - dia 0) entre os dois grupos, antes do início do tratamento com anlodipino ou placebo.

Parâmetros	Anlodipino (n=18)				Placebo (n=22)				p-valor
	M	Md	DP	IQR	M	Md	DP	IQR	
Idade (anos)	11,35	11,00	3,67	----	11,95	12,00	2,61	----	0,571
Peso (kg)	5,74	4,75	2,85	3,65	6,76	6,45	2,49	4,08	0,145
ECC (1 a 9)	4,39	4,50	1,65	1,75	4,14	4,00	1,49	2,00	0,626
EMM (0 a 3)	2,11	2,00	0,83	1,00	2,05	2,00	0,72	0,75	0,657
QQV (6 a 24)	10,56	10,00	2,59	3,50	10,05	10,00	1,70	3,50	0,835
Ecocardiograma									
Relação AE/Ao	2,58	2,70	0,38	0,43	2,64	2,63	0,39	0,31	0,470
DIVEdN	2,02	2,07	0,30	0,39	2,09	2,08	0,19	0,10	0,511
DIVEsN	0,87	0,83	0,24	0,26	1,00	0,94	0,23	0,32	0,472
Onda E (m/s)	1,14	1,14	0,28	0,38	1,10	1,12	0,21	0,35	0,396
Relação E/A	1,41	1,30	0,57	0,95	1,69	1,60	0,71	1,24	0,439
Relação E/E'	11,95	11,79	3,04	2,53	11,74	10,80	4,36	3,28	0,514
Relação E/TRIV	2,99	2,84	1,53	2,00	2,51	2,39	0,84	1,05	0,323
+dP/dt (mmHg/s)	3211	2776	1095	1234	3065	2886	1250	1541	0,495
VejAoiP (ml/kg)	1,88	1,87	0,46	0,62	1,89	1,93	0,53	0,67	0,939
DCiP (ml/kg/min)	248	233	70	74	230	236	74	98	0,595
FRm (%)	83,67	85,27	5,41	7,77	82,05	84,21	7,13	7,84	0,554
PAS e Exames									
Laboratoriais									
PAS (mmHg)	124	122	19	23	126	117	24	35	0,913
Ureia (mg/dL)	89	80	46	46	75	63	37	31	0,191
Creatinina (mg/dL)	1,24	1,12	0,42	0,52	1,21	1,14	0,40	0,31	0,924
Densidade urinária	1,012	1,012	0,005	0,007	1,016	1,013	0,008	0,012	0,305
RPCU	0,25	0,24	0,15	0,17	0,36	0,27	0,47	0,25	0,803
Medicamentos									
Dose (mg/kg/dia)									
Furosemida	3,94	4,00	1,60	1,33	4,05	4,21	1,71	0,88	0,733
Espironolactona	2,25	2,22	0,56	0,86	2,37	2,29	0,84	0,58	0,902
Enalapril	0,81	0,80	0,23	0,32	0,86	0,92	0,31	0,19	0,191
Pimobendan	0,57	0,57	0,10	0,11	0,54	0,54	0,10	0,14	0,376
Anlodipino (n=18)									
Gênero	9 machos / 9 fêmeas				Placebo (n=22)				
Raça	7 SRD / 1 P / 4 Pi / 2 D / 2 Y / 1 S / 1 C				15 machos / 7 fêmeas				
					6 SRD / 9 P / 2 D / 2 Y / 2 S / 1 MT				

Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: M – média; Md – mediana; DP – desvio padrão; IQR – intervalo interquartil; ECC – escore de condição corporal, na escala de 1 a 9 pontos; EMM – escore de massa muscular, na escala de 0 a 3 pontos; QQV – questionário de qualidade de vida, cuja menor nota possível era 6 e a maior 24; AE – átrio esquerdo; Ao – aorta; DIVEdN – diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole normalizado para o peso corporal; DIVEsN – diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole normalizado para o peso corporal; TRIV – tempo de relaxamento isovolumétrico; VejAoiP – volume ejetado aórtico indexado ao peso corporal; DCiP – débito cardíaco indexado ao peso corporal; FRm – fração regurgitante mitral; PAS – pressão arterial sistólica sistêmica; RPCU – relação proteína/creatinina urinária; SRD – sem raça definida; P – Poodle; Pi – Pinscher; D – Dachshund; Y – Yorkshire Terrier; S – Shih Tzu; C – Chihuahua; MT – Maltês.

Tabela 4. Nota atribuída ao questionário de qualidade de vida pelos proprietários dos cães do estudo, de acordo com o grupo e tempo de avaliação.

Tempo	Anlodipino		Placebo		p-valor entre grupos
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
T0	10,56	2,59	10,05	1,70	0,835
T1	9,71	2,05	9,77	2,00	0,740
T5	10,46	3,13	9,64	1,55	0,804
T9	10,09	2,84	9,73	1,90	0,973
p-valor entre tempos	0,429		0,619		

Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: T0 – dia zero do estudo (momento em que era feita a randomização e iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo); T1 – um mês após o dia zero; T5 – cinco meses após o dia zero; T9 – nove meses após o dia zero. A menor e maior nota possíveis eram 6 e 24, respectivamente, sendo que as menores notas estão associadas a melhor qualidade de vida.

A composição corporal pode ser considerada um marcador sistêmico de gravidade das doenças crônicas como na doença pulmonar obstrutiva crônica (WOUTERS; CREUTZBERG; SCHOLS, 2002), na doença renal crônica (YAO et al., 2004) e na insuficiência cardíaca (CONRAADS; BOSMANS; VRINTS, 2002). A caquexia cardíaca é uma síndrome caracterizada pela perda de massa magra (FREEMAN et al., 1998), causada pela anorexia, possível aumento da necessidade energética e alterações metabólicas (FREEMAN; ROUBENOFF, 1994). Ela pode se desenvolver em decorrência da ICC, independente da cardiopatia envolvida, mas é mais comum em cães com cardiomiopatia dilatada, particularmente naqueles com ICC direita (FREEMAN; RUSH, 2006). A síndrome caquexia está relacionada com o aumento da morbidade e da mortalidade, independentemente da gravidade da doença (ANKER et al., 1997). Em um estudo com cães eutanaziados devido a ICC, 84% apresentavam anorexia e 92% fraqueza muscular, sendo esses os dois principais fatores que contribuíam para que os proprietários optassem pela eutanásia (MALLERY et al., 1999).

Tabela 5. Comparação do peso corporal, escore de condição corporal (ECC) e escore de massa muscular (EMM) entre os grupos anlodipino e placebo e entre os momentos de avaliação.

	Momento	Anlodipino		Placebo		p-valor entre grupos
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
Peso (kg)	T0	5,74	2,85	6,76	2,49	0,145
	T1	5,58	2,88	6,87	2,53	0,086
	T3	5,69	2,96	6,76	2,58	0,162
	T5	5,52	2,69	6,39	2,59	0,238
	T7	5,52	2,57	6,21	2,31	0,423
	T9	5,28	2,65	6,05	2,43	0,370
p-valor entre momentos		0,179		0,856		
ECC	T0	4,39	1,65	4,14	1,49	0,626
	T1	4,53	1,62	4,50	1,57	0,965
	T3	4,81	1,47	4,67	1,50	0,790
	T5	4,71	1,49	4,40	1,50	0,547
	T7	4,62	1,39	4,00	1,41	0,295
	T9	4,42	1,38	4,17	1,11	0,571
p-valor entre momentos		0,118		0,388		
EMM	T0	2,11	0,83	2,05	0,72	0,657
	T1	2,06	0,83	2,05	0,72	0,828
	T3	2,13	0,72	2,11	0,83	0,954
	T5	2,07	0,92	1,87	0,92	0,517
	T7	1,85	0,90	1,71	1,14	0,878
	T9	1,83	0,58	1,58	1,00	0,567
p-valor entre momentos		0,627		0,627		

Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: T0 – dia zero do estudo (momento em que era feita a randomização e iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo); T1 – um mês após o dia zero; T3 – três meses após o dia zero; T5 – cinco meses após o dia zero; T7 – sete meses após o dia zero; T9 – nove meses após o dia zero.

Esperava-se que o ECC e EMM diminuíssem ao longo dos momentos deste estudo, apresentando escores abaixo de 4 e 3, respectivamente, nos últimos tempos de avaliação em decorrência da evolução da ICC, que está diretamente relacionada ao aparecimento da caquexia e piora da condição corporal. Porém, o ECC médio de ambos os grupos se manteve normal (entre 4 e 5) em todos os tempos, e isso se deve provavelmente ao número amostral, tempo de acompanhamento de nove meses não ter sido suficiente para observar alterações no ECC ou a um bom manejo e controle da ICC, o que pode retardar a deterioração da condição corporal. Em relação ao EMM, não houve diferença entre os tempos nos dois grupos, entretanto, os valores médios em todos os momentos foram entre 1 e 2, demonstrando perda discreta a moderada

de massa muscular e indicando que a caquexia estava presente nos cães desde o início do estudo. A não detecção de diminuição do EMM nos últimos tempos em comparação ao início do estudo pode ser explicada pelos mesmos possíveis motivos citados para o ECC e também porque a síndrome caquexia é mais grave e tem evolução mais rápida em pacientes com ICC direita, e neste estudo a grande maioria dos cães apresentaram apenas ICC esquerda.

A terapia convencional por via oral instituída no início do estudo (durante os 30 dias de adaptação das medicações até o T0) para o grupo anlodipino e placebo foi, respectivamente: furosemida 1,97 e 2,03 mg/kg a cada 12 horas, espironolactona 2,25 e 2,37 mg/kg a cada 24 horas, enalapril 0,41 e 0,43 mg/kg a cada 12 horas e pimobendan 0,29 e 0,27 mg/kg a cada 12 horas. O aumento da dose e/ou da frequência de administração destes quatro fármacos era permitido quando os cães apresentavam sintomas de congestão (como tosse, taquipneia, dispneia, cianose, ascite, efusão pleural, achados radiográficos compatíveis com edema e índices ecocardiográficos preditivos de edema pulmonar alterados), e esses reajustes de doses eram normalmente mantidos cronicamente para controlar os sintomas e manter os pacientes compensados. A dose média inicial de anlodipino que o grupo tratado recebeu foi 0,31 mg/kg a cada 24 horas e foi mantida a mesma para todos os cães deste grupo até o término do tempo de acompanhamento, porém, devido a pequenas mudanças no peso corporal dos cães em cada momento, essa dose variou de 0,30 a 0,32 mg/kg a cada 24 horas e não apresentou diferença significativa entre os tempos ($p=0,856$).

Para comparar a dose das medicações convencionais entre os grupos e tempos, foi utilizado a dose média diária total de cada fármaco (Tabela 6). Em relação a furosemida, a dose média diária do grupo placebo (6,27 mg/kg/dia $\pm 2,60$) foi significativamente maior do que o grupo anlodipino (4,31 mg/kg/dia $\pm 2,16$, $p=0,041$) apenas no T7. O grupo placebo apresentou um aumento gradual da dose média diária de furosemida ao longo dos tempos de avaliação, sendo a dose no T7 e T9 (6,27 mg/kg/dia $\pm 2,60$ e 5,96 mg/kg/dia $\pm 2,38$) significativamente maior do que a dose no T1 (4,12 mg/kg/dia $\pm 2,01$, $p=0,004$), já o grupo anlodipino, não diferiu a dose de furosemida entre os momentos de avaliação (Figura 2).

A dose média diária de espironolactona foi significativamente maior no grupo placebo do que no grupo anlodipino no T7 (2,83 mg/kg/dia $\pm 0,77$ vs. 2,16 mg/kg/dia $\pm 0,41$, $p=0,008$) e T9 (2,87 mg/kg/dia $\pm 0,98$ vs. 2,06 mg/kg/dia $\pm 0,39$, $p=0,003$). Na

comparação entre os tempos de cada grupo, não houve diferença no grupo anlodipino e o grupo placebo apresentou tendência de aumento da dose média diária ao longo dos momentos de avaliação (p=0,090; Figura 3).

Tabela 6. Comparação dos fármacos da terapia convencional (expressos em mg/kg/dia) entre os grupos anlodipino e placebo e entre os momentos de avaliação.

	Anlodipino			Placebo		p-valor entre grupos
	Momento	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
Furosemida	T0	3,94	1,60	4,05	1,71	0,733
	T1	4,03	1,49	4,12	2,01	0,943
	T3	4,24	2,54	5,14	2,19	0,254
	T5	4,46	2,27	5,36	2,57	0,431
	T7	4,31	2,16	6,27	2,60	0,041
	T9	4,31	2,48	5,96	2,38	0,148
	p-valor entre momentos		0,662		0,004	
Espironolactona	T0	2,25	0,56	2,37	0,84	0,902
	T1	2,58	1,57	2,22	0,56	0,640
	T3	2,15	0,52	2,58	0,82	0,172
	T5	2,20	0,46	2,56	0,66	0,197
	T7	2,16	0,41	2,83	0,77	0,008
	T9	2,06	0,39	2,87	0,98	0,003
	p-valor entre momentos		0,236		0,090	
Enalapril	T0	0,81	0,23	0,86	0,31	0,191
	T1	0,85	0,34	0,83	0,31	0,691
	T3	0,71	0,26	0,87	0,21	0,062
	T5	0,75	0,20	0,86	0,21	0,162
	T7	0,77	0,21	0,85	0,30	0,166
	T9	0,72	0,35	0,79	0,32	0,562
	p-valor entre momentos		0,143		0,715	
Pimobendan	T0	0,57	0,10	0,54	0,10	0,376
	T1	0,58	0,10	0,54	0,13	0,182
	T3	0,59	0,16	0,55	0,10	0,254
	T5	0,59	0,13	0,66	0,23	0,759
	T7	0,66	0,23	0,75	0,25	0,249
	T9	0,69	0,25	0,84	0,34	0,260
	p-valor entre momentos		0,331		<0,001	

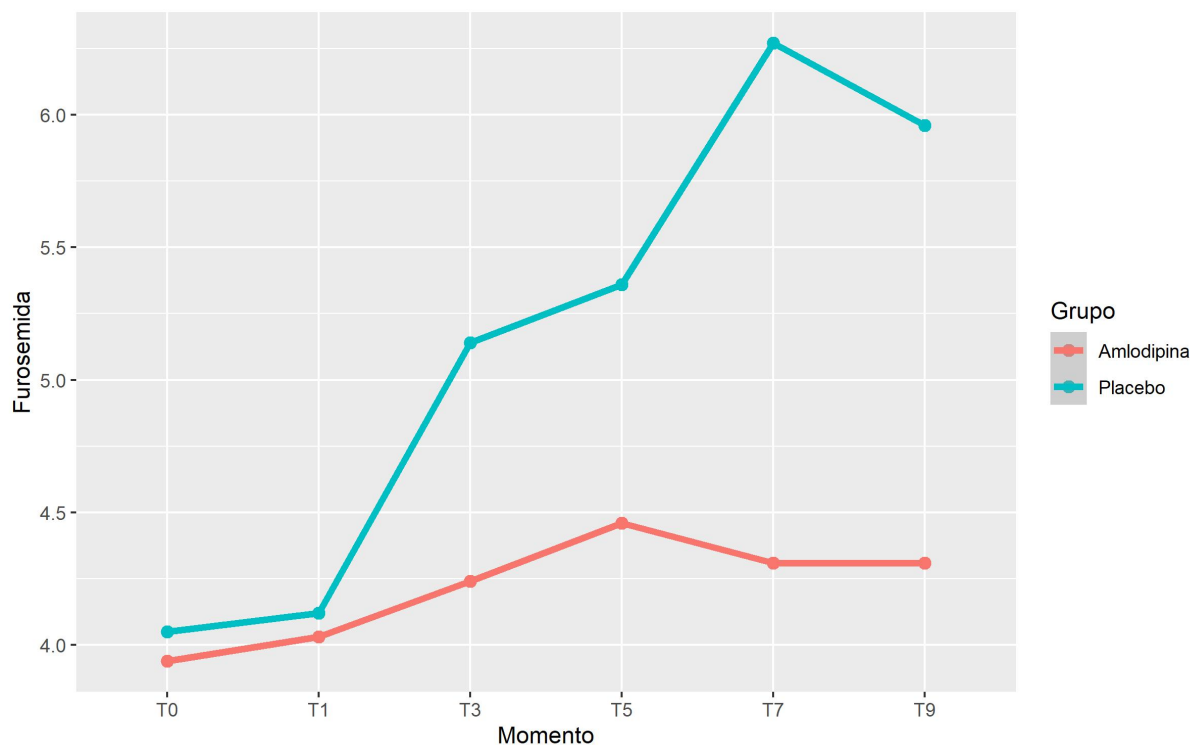
Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: T0 – dia zero do estudo (momento em que era feita a randomização e iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo); T1 – um mês após o dia zero; T3 – três meses após o dia zero; T5 – cinco meses após o dia zero; T7 – sete meses após o dia zero; T9 – nove meses após o dia zero.

Não houve diferença estatística para a dose média diária de enalapril entre os grupos e entre os tempos de cada grupo. Foi encontrada apenas uma tendência de o

grupo placebo ter uma dose média maior do que o grupo anlodipino no T3 (0,87 mg/kg/dia \pm 0,21 vs. 0,71 mg/kg/dia \pm 0,26, $p=0,062$).

Figura 2. Gráfico ilustrando a variação da dose média de furosemida (mg/kg/dia) ao longo dos momentos de avaliação, nos grupos anlodipino e placebo.



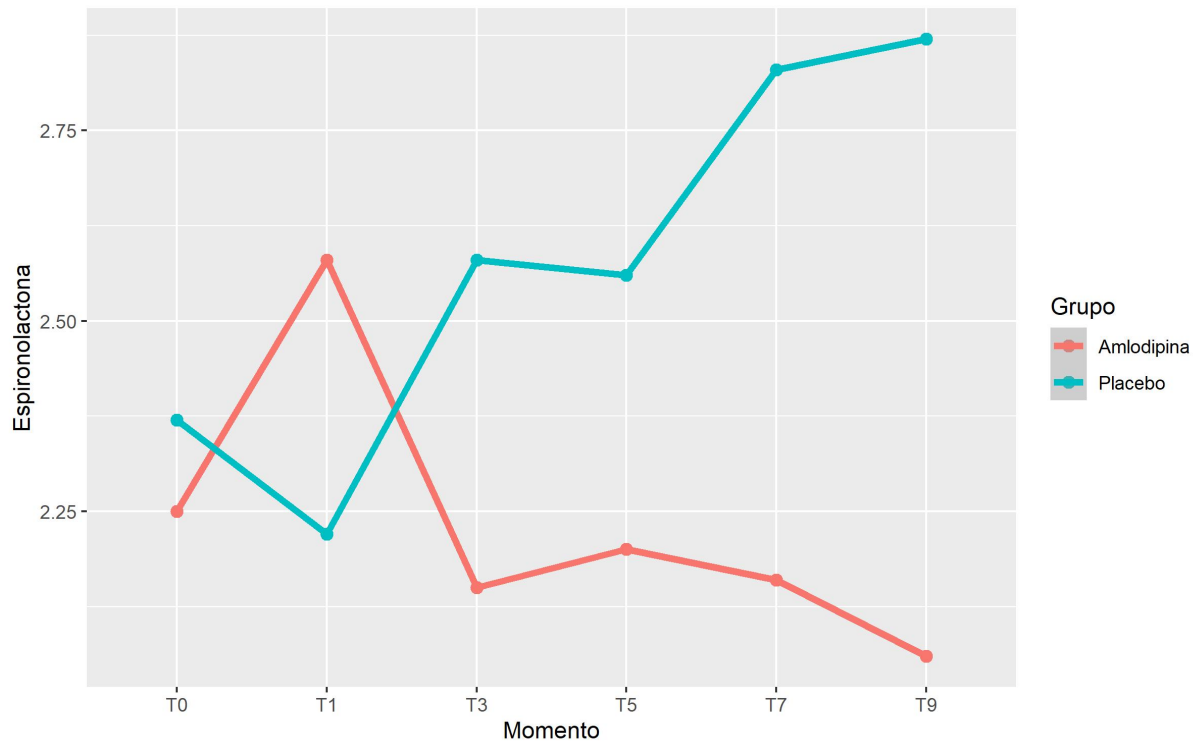
Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: T0 – dia zero do estudo (momento em que era feita a randomização e iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo); T1 – um mês após o dia zero; T3 – três meses após o dia zero; T5 – cinco meses após o dia zero; T7 – sete meses após o dia zero; T9 – nove meses após o dia zero.

O pimobendan não apresentou diferença em relação a dose média diária entre os grupos e entre os tempos no grupo anlodipino. Entretanto, entre os tempos do grupo placebo houve diferença ($p<0,001$), com aumento gradual da dose média diária ao longo dos momentos (Figura 4).

Diversos medicamentos são recomendados na terapia de pacientes com DMVM estágio C para controle das manifestações clínicas da ICC, melhora da qualidade de vida e aumento da sobrevida (ATKINS et al., 2009), entretanto, recomenda-se também a utilização das menores doses que mantém o paciente estável e sem sintomas de congestão. A associação do anlodipino a terapia convencional de pacientes com DMVM estágio C demonstrou que é possível utilizar doses menores de furosemida e espirolactona, o que pode ajudar a reduzir também os efeitos colaterais destas medicações.

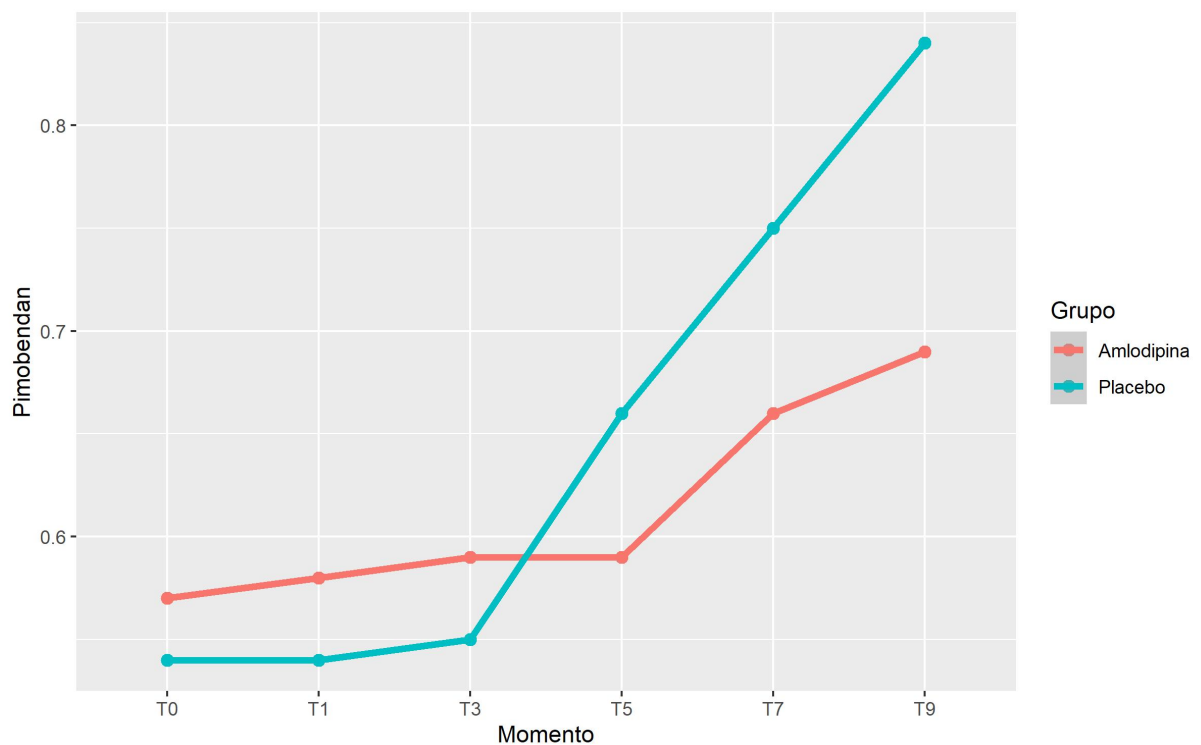
Figura 3. Gráfico ilustrando a variação da dose média de espironolactona (mg/kg/dia) ao longo dos momentos de avaliação, nos grupos anlodipino e placebo.



Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: T0 – dia zero do estudo (momento em que era feita a randomização e iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo); T1 – um mês após o dia zero; T3 – três meses após o dia zero; T5 – cinco meses após o dia zero; T7 – sete meses após o dia zero; T9 – nove meses após o dia zero.

Figura 4. Gráfico ilustrando a variação da dose média de pimobendan (mg/kg/dia) ao longo dos momentos de avaliação, nos grupos anlodipino e placebo.



Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: T0 – dia zero do estudo (momento em que era feita a randomização e iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo); T1 – um mês após o dia zero; T3 – três meses após o dia zero; T5 – cinco meses após o dia zero; T7 – sete meses após o dia zero; T9 – nove meses após o dia zero.

Em relação a PAS (Tabela 7), na comparação entre os grupos, houve diferença apenas no T3 aonde o grupo anlodipino apresentou PAS significativamente menor (118 mmHg \pm 13,81) do que o grupo placebo (128 mmHg \pm 20,05, $p=0,028$), e no T7 houve tendência da PAS do grupo anlodipino (135 mmHg \pm 29,05) ser maior do que o grupo controle (118 mmHg \pm 18,62, $p=0,071$). Não houve diferença da PAS entre os momentos de avaliação em ambos os grupos, apesar do grupo anlodipino ter apresentado tendência de diferença da PAS entre os tempos ($p=0,060$).

Uma das principais preocupações no uso de arteriodilatadores em pacientes com ICC é a hipotensão, pois estes pacientes já podem ter valores de PAS próximas ao limite inferior de normalidade devido ao débito cardíaco diminuído. Quando se utiliza arteriodilatadores em cães com ICC é esperado uma discreta redução da PAS, o que promove redução da pós-carga e, conseqüentemente, aumento do débito cardíaco. A infusão intravenosa de altas doses de amlodipina em ratos reduz a pressão arterial sistêmica em 12 mmHg e não altera o fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular. Entretanto, aumenta o fluxo urinário e a excreção renal de sódio, demonstrando assim que além do seu efeito vasodilatador, ela também pode causar diurese e natriurese (JOHNS, 1988). Considerando que pacientes com ICC apresentam retenção de sódio e podem ter o fluxo sanguíneo renal diminuído devido a redução do débito cardíaco, estes efeitos do anlodipino demonstrados em ratos de natriurese e aumento do fluxo urinário podem ser extremamente benéficos para cães com DMVM e ICC. O grupo anlodipino além de não apresentar redução significativa da PAS após o início do tratamento e ao longo de todo o estudo, a PAS manteve-se sempre dentro dos valores de normalidade (ACIERNO et al., 2018).

Os resultados dos exames laboratoriais estão expressos na Tabela 7. Não houve diferença nos valores de ureia entre os grupos e entre os momentos de avaliação, entretanto, no T7-10 ocorreu tendência de um maior nível sérico de ureia no grupo anlodipino (90 mg/dL \pm 46,10 vs. grupo placebo 70 mg/dL \pm 39,65, $p=0,089$). Os valores de creatinina não diferiram entre os grupos e entre os tempos no grupo anlodipino, já no grupo placebo a média da creatinina no T9 foi 1,95 mg/dL (\pm 2,03), significativamente maior do que a basal (1,21 mg/dL \pm 0,40) e no T7-10 (1,16 mg/dL

$\pm 0,48$) e T5 (1,29 mg/dL $\pm 0,31$, $p=0,002$). A RPCU e a densidade urinária não apresentaram diferença entre os grupos e entre os tempos em ambos os grupos.

Tabela 7. Comparação da pressão arterial e exames laboratoriais entre os grupos anlodipino e placebo e entre os momentos de avaliação.

	Momento	Anlodipino		Placebo		p-valor entre grupos
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
PAS (mmHg)	T0	124	19,09	126	23,73	0,913
	T7-10	130	16,16	127	19,59	0,372
	T1	130	20,96	125	23,17	0,607
	T3	118	13,81	128	20,05	0,028
	T5	115	18,94	121	23,74	0,406
	T7	135	29,05	118	18,62	0,071
	T9	131	30,67	125	18,22	0,817
	p-valor entre momentos		0,060		0,734	
Ureia (mg/dL)	T0	89	45,60	75	36,83	0,191
	T7-10	90	46,10	70	39,65	0,089
	T5	103	57,91	90	33,95	0,651
	T9	118	49,88	117	93,10	0,525
p-valor entre momentos		0,118		0,160		
Creatinina (mg/dL)	T0	1,24	0,42	1,21	0,40	0,924
	T7-10	1,31	0,58	1,16	0,48	0,779
	T5	1,32	0,49	1,29	0,31	0,947
	T9	1,36	0,41	1,95	2,03	0,498
p-valor entre momentos		0,276		0,002		
RPCU	T0	0,25	0,15	0,36	0,47	0,803
	T5	0,25	0,16	0,48	0,99	0,693
	T9	0,35	0,32	0,34	0,29	0,999
p-valor entre momentos		0,367		0,999		
Densidade urinária	T0	1,012	0,005	1,016	0,008	0,305
	T5	1,012	0,007	1,015	0,009	0,623
	T9	1,016	0,005	1,015	0,012	0,322
p-valor entre momentos		0,877		0,367		

Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: PAS – pressão arterial sistólica sistêmica; RPCU – relação proteína/creatinina urinária; T0 – dia zero do estudo (momento em que era feita a randomização e iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo); T7-10 – sete a 10 dias após o dia zero; T1 – um mês após o dia zero; T3 – três meses após o dia zero; T5 – cinco meses após o dia zero; T7 – sete meses após o dia zero; T9 – nove meses após o dia zero.

Não há muitos estudos demonstrando efeitos adversos do anlodipino em cães com DMVM. Um trabalho com cães com DMVM que receberam anlodipino na dose de 0,25 mg/kg uma vez ao dia, durante 20 dias, não apresentaram nenhum tipo de

efeito colateral (OYAMA; PROSEK; SISSON, 2003) como azotemia ou hipotensão, corroborando com os nossos resultados. O valor médio de creatinina mais elevado no grupo placebo no T9, em comparação com os tempos mais iniciais, pode estar relacionado a necessidade do uso de maiores doses de furosemida e espironolactona neste grupo à medida que a doença progredia. Em todos os momentos de avaliação o valor médio de creatinina sérica do grupo anlodipino esteve $< 1,4$ mg/dL, que é o valor de referência de normalidade preconizados pela *International Renal Interest Society* (2019). A RPCU e densidade urinária não diferiram entre os grupos, demonstra que o tratamento com anlodipino não causou lesão renal clinicamente detectável pois, não aumentou os níveis de proteína urinária e não reduziu a densidade urinária. A proteinúria é considerada um marcador de lesão renal e considera-se que um cão tem proteinúria quando apresenta valor de RPCU $> 0,5$ (IRIS, 2019). Os valores médios de RPCU nos dois grupos em todos os tempos foi menor que 0,5, o que reforça que o tratamento não provocou efeitos deletérios para os rins.

No tratamento da ICC, uma das principais preocupações é controlar os sintomas e a congestão sem causar danos renais, visto que muitos fármacos utilizados para o manejo desta síndrome podem alterar a hemodinâmica renal, causando lesão irreversível aos rins, sendo frequente o desenvolvimento de síndrome cardiorrenal em estágios mais avançados da insuficiência cardíaca. Como o tratamento da ICC é crônico, o uso de medicamentos com menores efeitos colaterais para os rins e a associação de fármacos utilizando-se as menores doses necessárias é uma estratégia terapêutica importante para evitar ou retardar o aparecimento da doença renal crônica e síndrome cardiorrenal, que podem impactar na sobrevida e qualidade de vida do paciente.

Em relação ao ecocardiograma, o DIVEsN no T5 no grupo placebo ($0,96 \pm 0,25$) foi significativamente maior do que no grupo anlodipino ($0,82 \pm 0,29$, $p=0,039$) e no T1 o grupo placebo ($0,96 \pm 0,20$) apresentou tendência a um valor médio do DIVEsN maior do que o grupo anlodipino ($0,86 \pm 0,24$, $p=0,078$). O valor de $+dP/dt$ teve tendência a diferir entre os tempos de avaliação no grupo anlodipino ($p=0,097$). Nenhum outro índice ecocardiográfico apresentou diferença significativa ou tendência entre grupos e entre tempos (Tabela 8).

Tabela 8. Comparação dos parâmetros ecocardiográficos entre os grupos anlodipino e placebo e entre os momentos de avaliação.

		Anlodipino		Placebo		p-valor entre grupos
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
Relação AE/Ao	T0	2,58	0,38	2,64	0,39	0,470
	T1	2,51	0,44	2,67	0,42	0,198
	T5	2,51	0,47	2,75	0,52	0,308
	T9	2,51	0,44	2,75	0,49	0,236
p-valor entre momentos		0,654		0,954		
DIVEdN	T0	2,02	0,30	2,09	0,19	0,511
	T1	2,04	0,29	2,06	0,18	0,422
	T5	1,93	0,35	2,05	0,22	0,314
	T9	1,93	0,32	2,05	0,19	0,472
p-valor entre momentos		0,580		0,717		
DIVEsN	T0	0,87	0,24	1,00	0,23	0,472
	T1	0,86	0,24	0,96	0,20	0,078
	T5	0,82	0,29	0,96	0,25	0,039
	T9	0,80	0,20	1,01	0,19	0,126
p-valor entre momentos		0,729		0,316		
Onda E (m/s)	T0	1,14	0,28	1,10	0,21	0,396
	T1	1,07	0,30	1,08	0,20	0,775
	T5	1,01	0,28	1,03	0,21	0,797
	T9	1,06	0,29	1,09	0,25	0,862
p-valor entre momentos		0,577		0,598		
Relação E/A	T0	1,41	0,57	1,69	0,71	0,439
	T1	1,37	0,59	1,54	0,68	0,492
	T5	1,26	0,53	1,26	0,54	0,880
	T9	1,15	0,51	1,38	0,78	0,655
p-valor entre momentos		0,196		0,181		
Relação E/E'	T0	11,95	3,04	11,74	4,36	0,514
	T1	11,12	2,76	11,42	2,94	0,918
	T5	11,23	2,60	10,71	3,71	0,739
	T9	12,10	3,51	10,52	4,87	0,294
p-valor entre momentos		0,506		0,410		
Relação E/TRIV	T0	2,99	1,53	2,51	0,84	0,323
	T1	2,41	0,85	2,50	1,19	0,837
	T5	2,60	1,65	2,23	0,73	0,832
	T9	3,32	2,17	2,59	1,15	0,294
p-valor entre momentos		0,696		0,781		
+dP/dt (mmHg/s)	T0	3211	1095	3065	1250	0,495
	T1	3230	924	2877	1029	0,167
	T5	3356	1601	2843	1272	0,379
	T9	2558	838	2806	1280	0,710
p-valor entre momentos		0,097		0,144		
VejAoiP (ml/kg)	T0	1,88	0,46	1,89	0,53	0,939
	T1	2,12	0,61	2,12	0,92	0,353
	T5	2,21	0,57	1,97	0,62	0,525
	T9	2,27	0,73	2,05	0,86	0,456
p-valor entre momentos		0,256		0,356		

	T0	248	70	230	74	0,595
DCiP (ml/kg/min)	T1	275	85	257	89	0,430
	T5	276	72	229	71	0,260
	T9	278	82	261	112	0,882
	p-valor entre momentos		0,135		0,614	
	T0	83,67	5,41	82,05	7,13	0,554
FRm (%)	T1	80,84	6,86	80,77	9,36	0,631
	T5	79,35	9,35	83,25	6,02	0,486
	T9	81,54	8,33	83,56	7,01	0,411
	p-valor entre momentos		0,226		0,356	

Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: T0 – dia zero do estudo (momento em que foi feita a randomização e iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo); T1 – um mês após o dia zero; T5 – cinco meses após o dia zero; T9 – nove meses após o dia zero; AE – átrio esquerdo; Ao – aorta; DIVEdN – diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole normalizado para o peso corporal; DIVEsN – diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole normalizado para o peso corporal; TRIV – tempo de relaxamento isovolumétrico; VejAoiP – volume ejetado aórtico indexado ao peso corporal; DCiP – débito cardíaco indexado ao peso corporal; FRm – fração regurgitante mitral.

Esperava-se que o tratamento com anlodipino reduziria a pós-carga, e conseqüentemente, aumentaria o VejAoiP e DCiP e diminuiria a FRm, promovendo redução da sobrecarga de volume nas câmaras cardíacas esquerdas que poderia ser refletida no retardo do remodelamento cardíaco ou até mesmo no remodelamento reverso de AE e VE, mantendo estáveis ou diminuído os valores de relação AE/Ao, DIVEdN e DIVEsN. Além disso, esperava-se também que a redução da sobrecarga de volume promovesse diminuição da pressão no AE e das pressões de enchimento do VE, que seria refletido na redução dos valores dos índices diastólicos como a velocidade da onda E e as relações E/A, E/E' e E/TRIV, no entanto, os resultados ecocardiográficos não foram muito expressivos.

Uma possível explicação para o grupo anlodipino não apresentar diferença estatística em relação ao grupo placebo pode ter sido o tempo de acompanhamento insuficiente, visto que a evolução da DMVM é lenta. No estudo DELAY, cães com DMVM estágio B2 foram tratados com a associação de espironolactona e benazepril e comparados a um grupo que recebeu placebo, e só foi encontrada diferença da relação AE/Ao e DIVEdN entre os grupos após 12 meses de tratamento. O tempo de acompanhamento dos cães no estudo DELAY foi de três anos e meio e ao final desse período, o grupo placebo apresentou valores de relação AE/Ao e DIVEdN superiores aos basais, já o grupo tratado apresentou valores inferiores, demonstrando remodelamento reverso de AE e VE (BORGARELLI et al., 2020). Talvez se o presente

estudo tivesse um tempo de seguimento e um número amostral maior, os resultados poderiam ter sido semelhantes ao estudo DELAY.

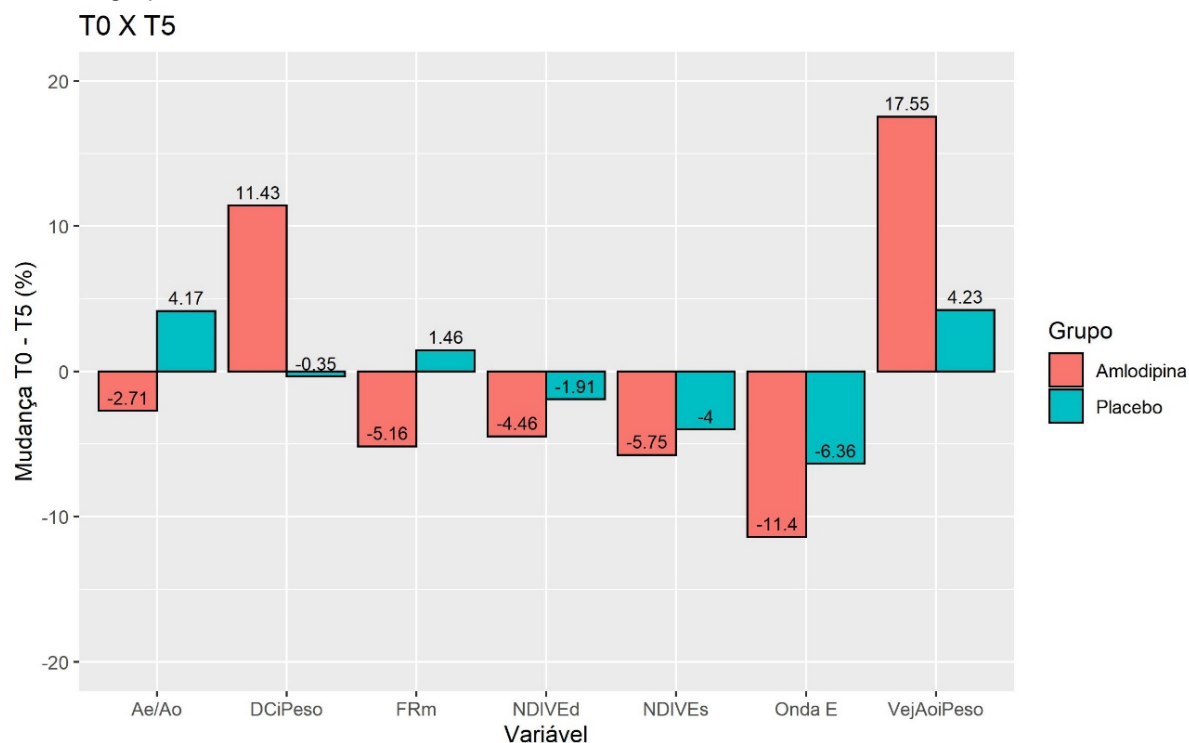
Outra hipótese para justificar a ausência de diferença entre os grupos em relação aos índices ecocardiográficos é o uso do pimobendan no tratamento de todos os cães. Sabe-se que no estágio C da DMVM é recomendado a terapia com diferentes classes de medicamentos para retardar a evolução da doença e controlar os sintomas de ICC: diuréticos de alça para controle da congestão, antagonista de receptores de aldosterona para evitar fibrose miocárdica e manter níveis séricos adequados de potássio, iECA para bloquear o SRAA e evitar seus efeitos deletérios na evolução da IC e pimobendan para aumentar o inotropismo e reduzir a pós-carga. Como o anlodipino também promove redução da pós-carga, o pimobendan pode ter mascarado o seu potencial efeito por já estar promovendo vasodilatação quando foi iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo. Não se sabe se o retardo da evolução da DMVM causado pelo pimobendan se deve ao efeito inotrópico positivo, vasodilatador ou a associação dos dois. São necessários estudos comparando essas duas medicações no tratamento da ICC, visto que se o anlodipino tiver eficácia igual ou superior ao pimobendan, seria uma opção terapêutica importante por ser um medicamento muito mais barato do que o pimobendan.

Foi analisado a porcentagem de variação de alguns índices ecocardiográficos que avaliam o remodelamento cardíaco (relação AE/Ao, DIVE_{dN} e DIVE_{sN}), hemodinâmica (VejAoiP, DCiP e FR_m) e função diastólica/pressão de enchimento (Onda E), nos dois grupos, entre o T0 e T5. O grupo anlodipino apresentou redução percentual de todos os índices que avaliam remodelamento cardíaco, enquanto o grupo placebo teve percentuais de redução menores ou até mesmo aumento destes índices. Em relação aos parâmetros de avaliação hemodinâmica, o grupo anlodipino apresentou aumento percentual do VejAoiP e DCiP e redução da FR_m, já o grupo placebo, teve aumento da FR_m e aumento menos expressivo do VejAoiP e DCiP. Ambos os grupos apresentaram redução percentual do valor da onda E, mas essa redução no grupo anlodipino foi quase duas vezes maior do que no grupo placebo (Figura 5).

Um dos únicos estudos clínicos que avaliou o efeito do anlodipino em cães com DMVM não foi cegado e não teve grupo controle. Foi comparado parâmetros ecocardiográficos pré e pós-tratamento de 20 dias (em média) com uma dose média de anlodipino de 0,25 mg/kg a cada 24 horas. O tratamento resultou em uma redução

de 15% da FRm e 3,5% do DIVEd (OYAMA; PROSEK; SISSON, 2003). No presente estudo, após cinco meses de tratamento com dose semelhante de anlodipino, os cães apresentaram redução de 5,16% da FRm, enquanto o grupo placebo teve aumento de 1,46%. O resultado mais expressivo do estudo de Oyama, Prosek e Sisson (2003) pode ser justificado porque utilizaram cães com DMVM em diferentes estágios, incluindo 38% de animais assintomáticos que não eram tratados com nenhum outro medicamento a não ser o anlodipino, e os outros 62% eram tratados com iECA, diuréticos e/ou digoxina, mas nenhum cão recebeu pimobendan ou outro tipo de vasodilatador durante o período do estudo. No presente estudo o tratamento com anlodipino diminuiu 4,46% o DIVEdN, que foi uma redução mais importante do que o grupo placebo que diminuiu apenas 1,91% e do que a obtida por Oyama, Prosek e Sisson (2003), provavelmente porque no presente estudo o tempo de acompanhamento foi maior e o remodelamento cardíaco ou remodelamento reverso como resultado do tratamento na DMVM ocorre a longo prazo.

Figura 5. Porcentagem de mudança de alguns índices ecocardiográficos entre os momentos T0 e T5 em cada grupo.



Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: T0 – dia zero do estudo (momento em que foi feita a randomização e iniciado o tratamento com anlodipino ou placebo); T5 – cinco meses após o dia zero; AE – átrio esquerdo; Ao – aorta; NDIVEd – diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole normalizado para o peso corporal; NDIVES – diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole normalizado para o peso corporal; VejAoiPeso – volume ejetado aórtico indexado ao peso corporal; DCiPeso – débito cardíaco indexado ao peso corporal; FRm – fração regurgitante mitral.

Oyama, Prosek e Sisson (2003) não obtiveram diferença na relação AE/Ao, já no nosso estudo, os cães do grupo anlodipino apresentaram diminuição de 2,71% e o grupo placebo aumento de 4,17% em 5 meses de tratamento.

Em um estudo experimental com porcos no qual foi induzida insuficiência cardíaca com aumento da frequência cardíaca por marca-passo artificial, o VejAo foi 50% maior e o DC 30% maior nos porcos tratados com anlodipino em comparação com os animais não tratados (KROMBACH et al., 1999). No presente estudo, comparando a porcentagem de variação desses índices, foi observado aumento de 17,55% do VejAoiP e 11,43% do DCiP no grupo anlodipino, já o grupo placebo, teve aumento de apenas 4,23% do VejAoiP e redução de 0,35% do DCiP, sendo assim, após 5 meses de tratamento, o aumento do VejAoiP no grupo anlodipino foi 4 vezes maior do que no grupo placebo.

Para avaliação dos desfechos primários, os cães foram acompanhados por um período mais longo do que os nove meses propostos. Durante todo o tempo de acompanhamento pós T9, os cães continuaram a receber o tratamento com anlodipino ou placebo. O tempo médio de seguimento para avaliação dos desfechos primários foi de 379 dias (mínimo de 30 e máximo de 905 dias). Dos 40 cães, 20% (n=8) não apresentaram nenhum desfecho primário, 12,5% (n=5) não atingiram nenhum desfecho e morreram de causas não cardiogênicas (corpo estranho, atropelamento, doença renal crônica, neuropatia, causa desconhecida) e 67,5% (n=27) atingiram pelo menos um dos desfechos, dos quais, 27,5% (n=11) apresentaram pelo menos um episódio de edema pulmonar cardiogênico, 37,5% (n=15) evoluíram para o estágio D da DMVM, 2,5% (n=1) apresentou três episódios de ascite associada a efusão pleural por evoluir para ICC direita e 30% (n=12) morreram de causa cardiogênica.

Foi avaliado o tempo médio em dias para atingir cada um dos desfechos primários e não houve diferença entre os grupos (Tabela 9 e Figuras 6, 7, 8 e 9). Também foi feita a avaliação da ocorrência e risco relativo de cada desfecho primário isolado e combinados, e também não houve diferença entre os grupos, devido a isso, não foi possível tirar conclusões a respeito da análise de risco relativo (Tabela 10).

Packer e colaboradores (1996), em um estudo clínico com pacientes humanos com insuficiência cardíaca, observaram que o grupo tratado com anlodipino apresentou uma redução de 16% no risco de morte e 9% no risco de desenvolver eventos cardiocirculatórios primários (edema pulmonar, infarto do miocárdio e taquiarritmias ventriculares) em comparação ao grupo placebo. Quando esses

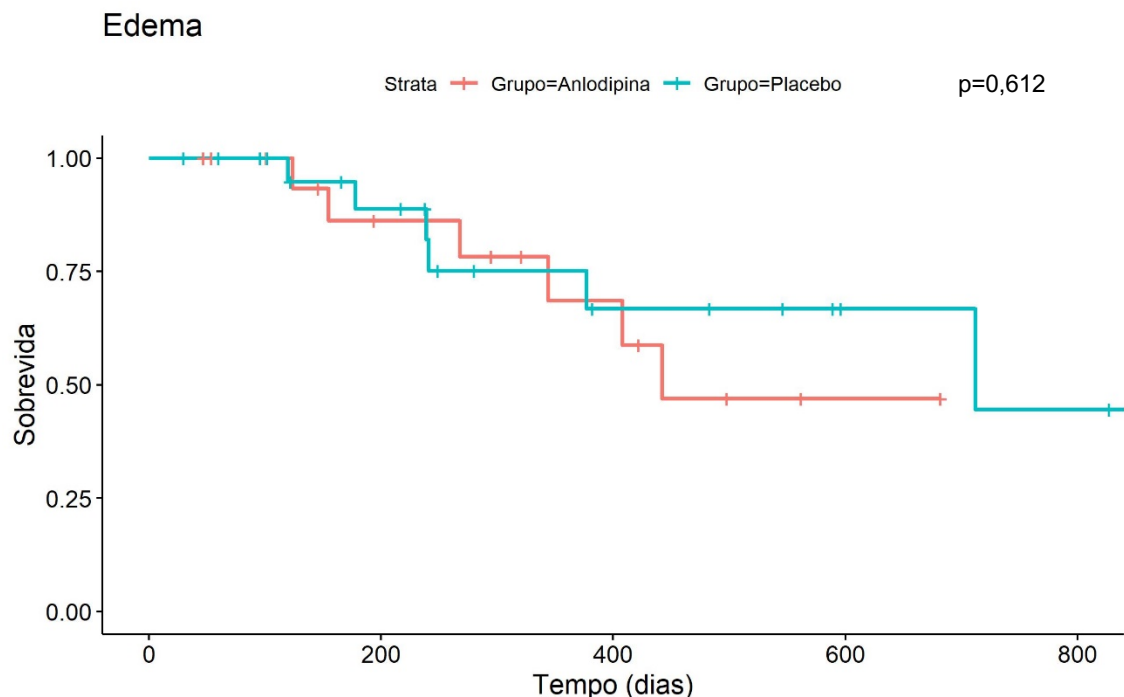
mesmos pacientes foram subdivididos em um grupo que apresentava insuficiência cardíaca secundária a causas isquêmicas e outro grupo secundária a causas não-isquêmicas (cardiomiopatia dilatada primária), o grupo de causas não-isquêmicas apresentou redução de 46% no risco de morte e 31% no risco de desenvolver eventos cardiocirculatórios primários, em comparação ao grupo placebo.

Tabela 9. Média e intervalo de confiança (IC) do tempo (em dias) de ocorrência de cada desfecho primário de acordo com o grupo.

	Amlodipina		Placebo		p-valor sobrevida entre grupos
	Média	IC (95%)	Média	IC (95%)	
Atingiu desfecho	381	280 – 482	393	293 – 493	0,750
Edema	486	371 – 602	537	430 – 643	0,573
Morte cardiogênica	525	408 – 643	531	427 – 634	0,979
Evolução para o estágio D	526	417 – 635	436	320 – 553	0,336
Morte não cardiogênica	515	411 – 619	570	418 – 667	0,378
Ascite e efusão pleural	682	682	603	512 – 685	0,122

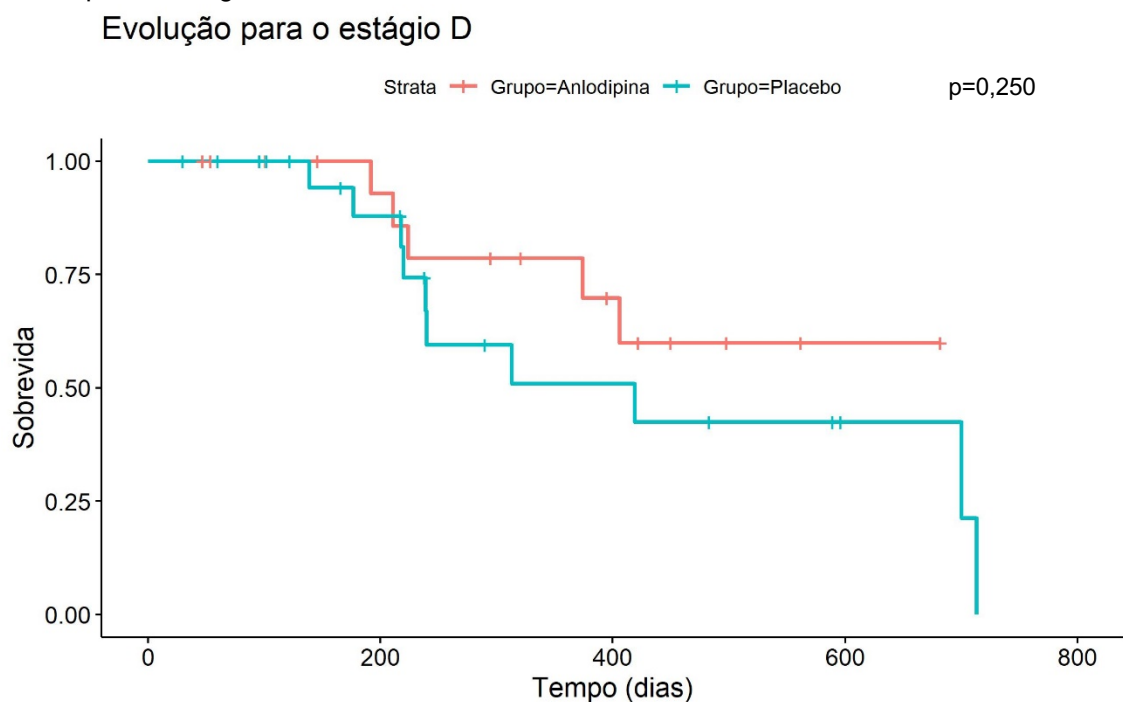
Fonte: DUARTE (2021).

Figura 6. Gráfico de Kaplan-Meier de sobrevivência de acordo com o grupo nos pacientes que tiveram edema pulmonar cardiogênico.



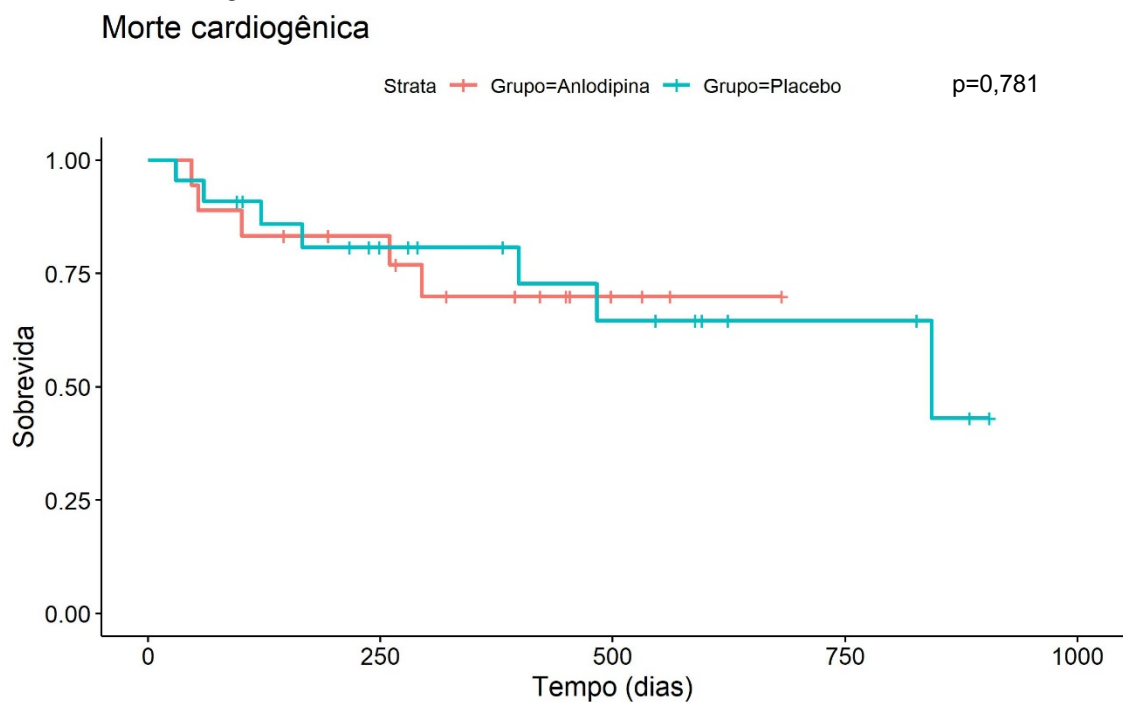
Fonte: DUARTE (2021).

Figura 7. Gráfico de Kaplan-Meier de sobrevivência de acordo com o grupo nos pacientes que evoluíram para o estágio D da DMVM.



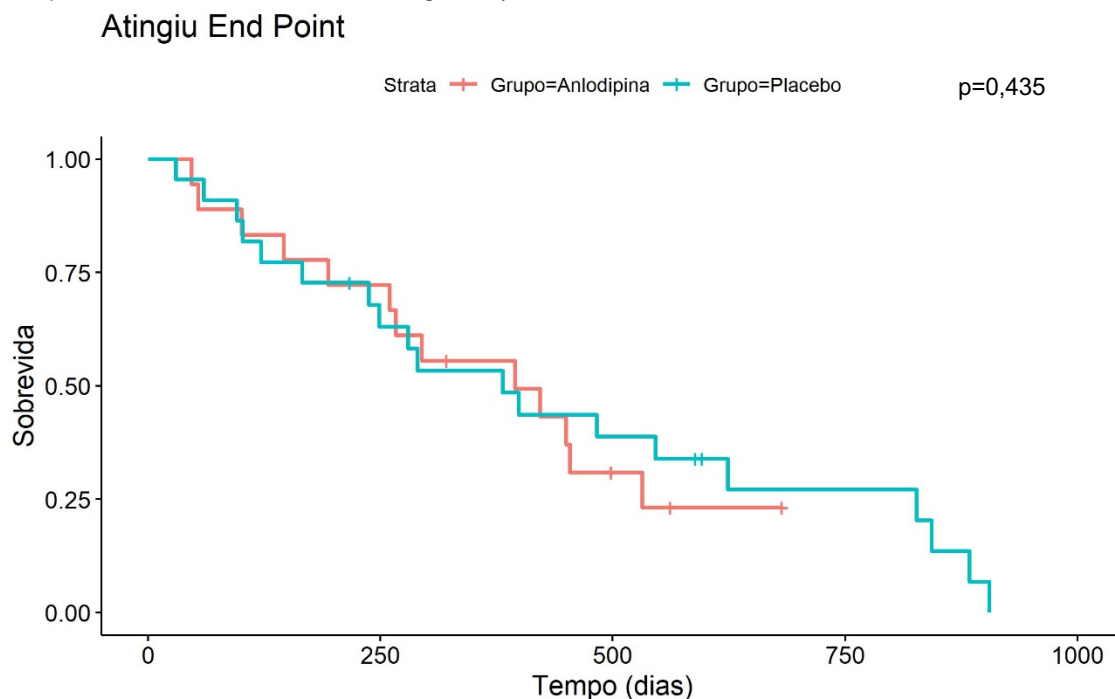
Fonte: DUARTE (2021).

Figura 8. Gráfico de Kaplan-Meier de sobrevivência de acordo com o grupo nos pacientes que tiveram morte de causa cardiogênica.



Fonte: DUARTE (2021).

Figura 9. Gráfico de Kaplan-Meier de sobrevivência de acordo com o grupo nos pacientes que atingiram os desfechos primários combinados (edema pulmonar, evolução para o estágio D da DMVM, ascite e efusão pleural e morte de causa cardiogênica).



Fonte: DUARTE (2021).

Devido ao baixo número amostral para avaliação de sobrevivida, não foi possível demonstrar o efeito do anlodipino (positivo ou não) em relação a isto. Porém, 64% dos cães no grupo placebo atingiram algum dos desfechos primários, enquanto no grupo anlodipino esse valor foi de 40%. Isso pode indicar um efeito promissor do anlodipino e estudos futuros com número amostral maior poderiam encontrar diferença significativa em relação aos desfechos primários.

Não existem estudos clínicos em literatura veterinária que avaliaram o efeito do anlodipino em relação a desfechos como morte por causas cardiogênicas, edema pulmonar ou evolução da doença em cães com DMVM. O presente estudo não encontrou diferença entre os grupos na avaliação dos desfechos primários, o que já era de certa forma esperado devido ao pequeno número amostral e tempo de acompanhamento relativamente curto. Mesmo estudos clínicos randomizados em cardiologia veterinária, muitas vezes multicêntricos, com número amostral bem maior e tempo de seguimento mais longo, falham em demonstrar o efeito de fármacos em aumentar sobrevivida, retardar a evolução da doença ou diminuir ocorrência de outros desfechos primários (KVART et al., 2002; BORGARELLI et al., 2020; WESS et al., 2020).

Tabela 10. Ocorrência de cada desfecho primário e seu risco relativo de acordo com o grupo.

	Anlodipino n=18	Placebo N=22	RR (IC 95%)	p-valor
Atingiu desfecho	13 (72,2%)	19 (86,4%)	1	-
Não atingiu desfecho	5 (27,8%)	3 (13,6%)	0,83 (0,60 – 1,16)	0,429
Edema	6 (33,3%)	6 (26,1%)	1	-
Não teve edema	12 (66,7%)	17 (73,9%)	1,27 (0,49 – 3,29)	0,612
Morte cardiogênica	5 (27,8%)	7 (31,8%)	1	-
Não houve morte cardiogênica	13 (72,2%)	15 (68,2%)	0,87 (0,33 – 2,28)	0,781
Evolução para o estágio D	5 (27,8%)	10 (45,5%)	1	-
Não evoluiu para o estágio D	13 (72,2%)	12 (54,5%)	0,61 (0,25 – 1,46)	0,250
Morte não cardiogênica	6 (33,3%)	5 (22,7%)	1	-
Não houve morte não cardiogênica	12 (66,7%)	17 (77,3%)	1,46 (0,53 – 4,02)	0,454
Ascite e efusão pleural	0 (0,0%)	3 (12,5%)	-	-
Não apresentou ascite e efusão pleural	18 (100,0%)	21 (87,5%)	-	0,119
DESFECHOS COMBINADOS				
Edema, evolução para o estágio D e ascite e efusão pleural	7 (38,9%)	11 (50,0%)	1	-
Não apresentou edema, evolução para o estágio D e ascite e efusão pleural	11 (61,1%)	11 (50,0%)	0,77 (0,38 – 1,58)	0,482
Edema, morte cardiogênica, evolução para o estágio D e ascite e efusão pleural	11 (61,1%)	16 (72,7%)	1	-
Não apresentou edema, morte cardiogênica, evolução para o estágio D, ascite e efusão pleural	7 (38,9%)	6 (27,3%)	0,84 (0,53 – 1,31)	0,435

Fonte: DUARTE (2021).

Legenda: RR – risco relativo; IC – intervalo de confiança.

Outros fatores além do número amostral podem influenciar nesses tipos de estudos, como a dose média empregada e o intervalo de administração. No estudo VALVE, que avaliou o efeito do ramipril associado a furosemida e pimobendan no tratamento de cães com DMVM estágio C, não observou aumento da sobrevida do grupo ramipril em comparação com o grupo que só recebeu furosemida e pimobendan, no entanto, a mediana da dose utilizada de ramipril foi 0,21 mg/kg a cada 24 horas e há indicação de uso deste fármaco a cada 12 horas para obter-se melhores resultados na inibição da ECA (HAMLIN; NAKAYAMA, 1998). No presente estudo foi utilizado uma dose de anlodipino (0,31 mg/kg a cada 24 horas) considerada relativamente alta para cães com ICC, devido ao risco de hipotensão, apesar de estar dentro dos valores de referência de dose recomendada, que é 0,2 a 1,0 mg/kg/dia

(BROWN, 1997; SNYDER; COOKE, 2005). A ausência de efeitos colaterais como hipotensão ou azotemia com repercussão clínica demonstra que talvez uma dose mais elevada poderia ter sido empregada, o que talvez contribuísse para diferentes resultados. Em relação ao intervalo de administração, devido a meia-vida longa do anlodipino, de 30 horas (TISSIER; PERROT; ENRIQUEZ, 2005), não haveria a necessidade de um intervalo de administração menor que 24 horas.

Por fim, mesmo sem demonstrar efeitos positivos em relação aos desfechos primários, os resultados de desfechos secundários deste estudo e de outros como, por exemplo, o estudo DELAY, devem ser considerados como diretrizes para a utilização destes fármacos e tomada de decisões terapêuticas no tratamento de cães com DMVM, principalmente enquanto não há evidências científicas mais robustas.

7. LIMITAÇÕES

A maior limitação do estudo foi o número amostral pequeno, principalmente para avaliação dos desfechos primários. Estudos clínicos randomizados que avaliam o efeito de um medicamento no tratamento da ICC em cães necessitam de dezenas ou até centenas de pacientes para encontrar uma resposta em relação a sobrevida e ocorrência de edema pulmonar.

O tempo de seguimento dos cães do estudo foi relativamente pequeno para uma doença de evolução lenta com a DMVM. Para observar diferenças nos índices ecocardiográficos entre os grupos, talvez seja necessário mais do que nove meses de acompanhamento.

Outra limitação foi a utilização do pimobendan para todos os cães do estudo, desde a fase de padronização da terapia convencional (antes da randomização e início do tratamento com anlodipino ou placebo). Por este fármaco ter efeito vasodilatador assim como o anlodipino, o pimobendan pode ter mascarado o potencial efeito do anlodipino.

8. CONCLUSÃO

O estudo não foi capaz de demonstrar efeito do anlodipino em aumentar a sobrevida, retardar a evolução para o estágio D da DMVM ou reduzir o número de edemas. Em relação aos índices ecocardiográficos, na avaliação da variação percentual foi encontrada melhora em índices relacionados a remodelamento cardíaco, hemodinâmica e função diastólica/pressão de enchimento no grupo anlodipino e uma piora ou melhora menos significativa no grupo placebo, apesar da análise estatística não demonstrar diferenças significativas entre os grupos na grande maioria dos parâmetros ecocardiográficos avaliados.

O tratamento com anlodipino na dose de 0,3 mg/kg uma vez ao dia demonstrou-se seguro para cães com DMVM e ICC, visto que não causou efeitos colaterais como hipotensão ou aumentos de ureia e creatinina em comparação ao placebo. Além do que, os cães tratados com anlodipino utilizaram doses menores de espironolactona e furosemida para manter a ICC estabilizada e não necessitaram de aumentos significativos na dose de pimobendan ao longo do estudo, como foi necessário no grupo placebo. Portanto, o anlodipino pode ser uma opção terapêutica segura para cães com DMVM estágio C para reduzir doses de outros fármacos utilizados no tratamento da ICC, podendo assim, diminuir o risco de efeitos colaterais destes medicamentos.

São necessários estudos futuros com um maior número de pacientes, acompanhamento por período mais longo e em outros estágios da doença para avaliar os efeitos promissores deste fármaco no tratamento da DMVM, e também comparar aos efeitos do pimobendan para avaliar se o anlodipino poderia ser uma opção terapêutica equivalente ao pimobendan no tratamento da ICC.

9. BIBLIOGRAFIA

ACIERNO, M. J.; BROWN, S.; COLEMAN, A. E.; JEPSON, R. E.; PAPICH, M.; STEPIEN, R. L.; SYME, H. M. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **J Vet Intern Med**, 32:1803–1822, 2018.

ANKER, S. D.; PONIKOWSKI, P.; VARNEY, S.; CHUA, T. P.; CLARK, A. L.; WEBB-PEPLOE, K. M.; HARRINGTON, D.; KOX, W. J.; POOLE-WILSON, P. A.; COATS, A. J. S. Wasting as independent risk factor for mortality in chronic heart failure. **The Lancet**, v. 349, p. 1050–1053, 1997.

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**, 23: 1142–1150, 2009.

ATKINS, C.E.; HÄGGSTRÖM, J. Pharmacologic management of myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Cardiology**, 14:165–184, 2012.

ATKINS, C. E.; KEENE, B. W.; BROWN, W. A.; COATS, J. R.; CRAWFORD, M. A.; DEFRANCESCO, T. C.; EDWARDS, N. J.; FOX, P. R.; LEHMKUHL, L. B.; LUETHY, M. W.; MEURS, K. M.; PETRIE, J.; PIPERS, F. S.; ROSENTHAL, S. L.; SIDLEY, J. A.; STRAUS, J. H. (2007). Results of the veterinary enalapril trial to prove reduction in onset of heart failure in dogs chronically treated with enalapril alone for compensated, naturally occurring mitral valve insufficiency. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 231(7): 1061-1069, 2007.

ATKINS C. E.; RAUSCH W. P.; GARDNER S. Y.; DE FRANCESCO T. C.; KEENE B. W.; LEVINE J. F. The effect of amlodipine and the combination of amlodipine and enalapril on the renin-angiotensin-aldosterone system in the dog. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, 30 (5):394–400, 2007.

BOON, J. A. **Veterinary echocardiography**. John Wiley & Sons, 632p, 2011.

BORGARELLI, M.; CROSARA, S.; LAMB, K.; SAVARINO, P.; LA ROSA, G.; TARDUCCI, A.; HAGGSTROM, J. Survival Characteristics and Prognostic Variables of Dogs with Preclinical Chronic Degenerative Mitral Valve Disease Attributable to Myxomatous Degeneration. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 26: 69–75, 2012.

BORGARELLI, M.; FERASIN, L.; LAMB, K.; BUSSADORI, C.; CHIAVEGATO, D.; D'AGNOLO, G.; MIGLIORINI, F.; POGGI, M.; SANTILLI, R. A.; GUILLOT, E.; GARELLI-PAAR, C.; CORNELIANI, R. T.; FARINA, F.; ZANI, A.; DIRVEN, M.; SMETS, P.; GUGLIELMINI, C.; OLIVEIRA, P.; DI MARCELLO, M.; PORCIELLO, F.; CROSARA, S.; CIARAMELLA, P.; PIANTEDOSI, D.; SMITH, S.; VANNINI, S.; DALL'AGLIO, E.; SAVARINO, P.; QUINTAVALLA, C.; PATTESON, M.; SILVA, J.; LOCATELLI, C.; TOALDO, M. B. DELAY of Appearance of sYmptoms of Canine Degenerative Mitral Valve Disease Treated with Spironolactone and Benazepril: the DELAY Study. **Journal of Veterinary Cardiology**. 27, p. 34-53, 2020.

BOSWOOD, A.; HÄGGSTRÖM, J.; GORDON, S. G. et al. Effect of Pimobendan in Dogs with Preclinical Myxomatous Mitral Valve Disease and Cardiomegaly: The EPIC Study - A Randomized Clinical Trial. **J Vet Intern Med**, 30:1765–1779, 2016.

BROWN, S. Chronic renal failure. In: **Handbook of Small Animal Practice**, Ed. Morgan, R. Saunders, 3 ed, p. 512–516, 1997.

BUCHANAN, JW. Chronic valvular disease (endocardiosis) in dogs. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine Journal Veterinary Cardiology**, v.6, p.6–7, 2004.

BUCHANAN, J.W.; 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.

BURGES, R.A.; DODD, M.G.; GARDINER, D.G. Pharmacologic profile of amlodipine. **The American Journal of Cardiology**, 64:10–20, 1989.

BURGES, R.; MOISEY, D. Unique pharmacologic properties of amlodipine. **Am J Cardiol**, 73: 2A–9A, 1994.

CHETBOUL, V. Tissue Doppler imaging: a promising technique for quantifying regional myocardial function. **Journal of Veterinary Cardiology**, 4 (2): 7-12, 2002.

CONRAADS, V. M.; BOSMANS, J. M.; VRINTS, C. J. Chronic heart failure: an example of a systemic chronic inflammatory disease resulting in cachexia. **Int J Cardiol**, 85(1):33 – 49, 2002.

COOKE, K. L.; SNYDER, P. S. Calcium channel blockers in veterinary medicine. **J Vet Intern Med**, 12: 123-131, 1998.

CORNELL, C. C.; KITTLESON, M. D.; TORRE, P. D.; HÄGGSTRÖM, J.; LOMBARD, C. W.; PEDERSEN, H. D.; VOLLMAR, A.; WEY, A. Allometric Scaling of M-Mode Cardiac Measurements in Normal Adult Dogs. **J Vet Intern Med**. 18:311–321, 2004.

EPSTEIN, M. Calcium antagonists and renal protection: emerging perspectives. **J. Hypertens**, 16: S17-S25, 1998.

FOX, P. R. Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. **Journal of veterinary cardiology**, 14(1): 103-126, 2012.

FREEMAN, L.; BECVAROVA, I.; CAVE, N.; MACKAY, C.; NGUYEN, P.; RAMA, B.; TAKASHIMA, G.; TIFFIN, R.; TSJIMOTO, H.; VAN BEUKELEN, P. WSAVA Nutritional Assessment Guidelines. **Journal of Small Animal Practice**, vol. 52, p. 385-396, July 2011.

FREEMAN, L. M.; ROUBENOFF, R. Nutrition implications of cardiac cachexia. **Nutr Rev**, v. 52, p. 340–347, 1994.

FREEMAN, L. M.; RUSH, J. E. Cardiovascular diseases: nutritional modulation. In: PIBOT, P.; BIOURGE, V.; ELLIOTT, D. **Encyclopedia of Canine Clinical Nutrition**. Royal Canin, 4^a ed, p. 335-367, 2006.

FREEMAN, L.M.; RUSH, J.E.; FARABAUGH, A.E.; MUST, A. Development and evaluation of a questionnaire for assessing health-related quality of life in dogs with cardiac disease. **J Am Vet Med Assoc**, 226 (11):1864-1868, 2005.

FREEMAN, L. M.; RUSH, J. E.; KEHAYIAS, J. J.; ROSS JR., J. N.; MEYDANI, S. N.; BROWN, D. J.; DOLNIKOWSKI, G. G.; MARMOR, B. N.; WHITE, M. E.; DINARELLO, C. A.; ROUBENOFF, R. Nutritional alterations and the effect of fish oil supplementation in dogs with heart failure. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.12, p. 440–448, 1998.

HAMLIN, R. L.; NAKAYAMA, T. Comparison of Some Pharmacokinetic Parameters of 5 Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Normal Beagles. **J Vet Intern Med**, 12:93-95, 1998.

HANSSON, K.; HÄGGSTRÖM, 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**, 43 (6): 568–575, 2002.

HÖLLMER, M.; WILLESEN, J. L.; TOLVER, A.; KOCH, J. Left atrial volume and phasic function in clinically healthy dogs of 12 different breeds. **Veterinary Journal**, 197(3):639–645, 2013.

INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY. IRIS staging of CKD (modified 2019). <http://www.iris-kidney.com/guidelines/staging.html> (acesso 04 de fevereiro de 2020 às 12:58).

JOHNS, E. J. A study of the renal actions of amlodipine in the normotensive and spontaneously hypertensive rat. **Br. J. Pharmacol**, 94: 311-318, 1988.

KEENE, B. W.; ATKINS, C. E.; BONAGURA, J. D.; FOX, P. R.; HÄGGSTRÖM, J.; FUENTES, V. L.; OYAMA, M. A.; RUSH, J. E.; STEPIEN, R.; UECHI, M. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. **J Vet Intern Med**. 1–14, 2019.

KOLIAS, T. J.; AARONSON, K. D.; ARMSTRONG, W. F. Doppler-derived dP/dt and -dP/dt predict survival in congestive heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, 36 (5):1594–1599, 2000.

KRAMER, B. K.; NISHID, A. M.; KELLY, R. A.; SMITH, T. W. Endothelins. Myocardial actions of a new class of cytokines. **Circulation**, 85:350–356, 1992.

KROMBACH, R. S.; CLAIR, M. J.; HENDRICK, J. W.; MUKHERJEE, R.; HOUCK, W. V.; HEBBAR, L.; KRIBBS, S. B.; DODD, M. G.; SPINALE, F. G. Amlodipine therapy in

congestive heart failure: hemodynamic and neurohormonal effects at rest and after treadmill exercise. **Am J Cardiol**, 84:3L–15L, 1999.

KVART, C.; HÄGGSTRÖM, J.; PEDERSEN, H. D.; HANSSON, K.; ERIKSSON, A.; JÄRVINEN, A. K.; ... & ÅBLAD, B. Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous valve disease and asymptomatic mitral regurgitation. **Journal of veterinary internal medicine**, 16(1): 80-88, 2002.

KWAN, Y. W.; BANGALORE, R.; LAKITSH, M.; et al. Inhibition of cardiac L-type calcium channels by quaternary amlodipine: Implications for pharmacokinetics and access to dihydropyridine binding site. **J Mol Cell Cardiol**, 27: 253-262, 1995.

LAFLAMME, D. P. Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine Pract**, v.22, p. 10-15, 1997.

LOMBARD, C. W.; JÖNS, O.; BUSSADORI, C. M. Clinical efficacy of pimobendan versus benazepril for the treatment of acquired atrioventricular valvular disease in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, 42(4): 249-261, 2006.

MACHIN D, CAMPBELL MJ, TAN SB, TAN SH (2009). **Sample Size Tables for Clinical Studies**. Wiley Blackwell, New York.

MADSEN, M. B.; OLSEN, L. H.; HÄGGSTRÖM, J.; HÖGLUND, K.; LJUNGVALL, I.; FALK, T.; WESS, G.; STEPHENSON, H.; DUKES-MCEWAN, J.; CHETBOUL, V.; GOUNI, V.; PROSCHOWSKY, H. F.; CIRERA, S.; KARLSKOV-MORTENSEN, P.; FREDHOLM, M. Identification of 2 loci associated with development of myxomatous mitral valve disease in Cavalier King Charles Spaniels. **Journal of Heredity**, 102 (Suppl 1), S62-S67, 2011.

MALLERY, K. F.; FREEMAN, L. M.; HARPSTER, N. K.; RUSH, J. E. Factors contributing to the euthanasia decision in dogs with congestive heart failure. **J Am Vet Med Assoc**, v. 214, p. 1201-1204, 1999.

McELMURRAY, J. H.; MUKHERJEE, R.; PATTERSON, T. M.; GOLDBERG, A.; KING, M. K.; HENDRICK, J. W.; GAY, D. M.; CLAIR, M. J.; JOLLY, J. R.; SPINALE, F. G. Comparison of amlodipine or nifedipine treatment with developing congestive heart failure: effects on myocyte contractility. **Journal of Cardiac Failure**, 7 (2):158-164, 2001.

MICHEL, K. E.; ANDERSON, W.; CUPP, C.; LAFLAMME, D. P. Correlation of a feline muscular mass score with body composition determined by dual-energy-x-ray absorptiometry. **British Journal of Nutrition**, v. 106, p. 857-859, 2011.

NELSON, R.; COUTO, C. G. Abordagem terapêutica da insuficiência cardíaca. In: NELSON, R.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. Elsevier Brasil, p. 53-73, 2015.

NORLANDER, M.; ABRAHAMSSON, T.; AKERBLUM, B.; THALEN, P.; HASSLE, A. Vascular versus myocardial selectivity of dihydropyridine calcium antagonists as studied in vivo and in vitro. **Pharmacol Toxicol**, 76: 56–62, 1995.

ORTON, E. C.; LACERDA, C. M.; MACLEA, H. B. Signaling pathways in mitral valve degeneration. **Journal of Veterinary Cardiology**. 14:7–17, 2012.

OYAMA, M. A.; PROSEK, R.; SISSON, D. D. Effect of Amlodipine on the severity of mitral regurgitation in dogs with chronic mitral valve disease. In: 2003 ACVIM FORUM. **Proceedings of the 21st ACVIM Forum**. 2003.

PARKER, H. G.; KILROY-GLYNN, P. Myxomatous mitral valve disease in dogs: Does size matter? **Journal of Veterinary Cardiology**, 14(1):19-29, 2012.

PACKER, M.; O'CONNOR, C. M.; GHALI, J. K.; PRESSLER, M. L.; CARSON, P. E.; BELKIN, R. N.; MILLER, A. B.; NEUBERG, G. W.; FRID, D.; WERTHEIMER, J. H.; CROPP, A. B.; DEMETS, D. L. Effect of amlodipine on morbidity and mortality in severe chronic heart failure. **N Engl J Med**, 335: 1107-14, 1996.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2019. URL <https://www.R-project.org/>.

RICHARDS, J. M.; FARRAR, E. J.; KORNREICH, B. G.; MOÏSE, N. S.; BUTCHER, J. T. The mechanobiology of mitral valve function, degeneration, and repair. **Journal of Veterinary Cardiology** 14(1): 47-58, 2012.

ROTH, M.; EICKELBERG, O.; KOHLER, E.; ERNE, P.; BLOCK, L. H. Ca²⁺ channel blockers modulate metabolism of collagens within the extracellular matrix. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, 93:5478-5482, 1996.

SCHOBBER, 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**, 24(6): 1358-1368, 2010.

SHARIFI, A. M.; LI, J. S.; ENDEMANN, D.; SCHIFFRIN, E. L. Effects of enalapril and amlodipine on small-artery structure and composition, and on endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. **Journal of hypertension**, 16(4), 457-466, 1998.

SNYDER, P.; COOKE, K. Management of hypertension. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. WB Saunders, Philadelphia, 6 ed., p. 477–479, 2005.

SNYDER, P. S.; SADEK, D.; JONES, G. L. Effect of amlodipine on echocardiographic variables in cats with systemic hypertension. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 15:52, 2001.

STEVENSON, M.; NUNES, T.; HEUER, C.; MARSHALL, J.; SANCHEZ, J.; THORNTON, R.; REICZIGEL, J.; ROBISON-COX, J.; SEBASTIANI, P.; SOLYMOS, P.; YOSHIDA, K.; JONES, G.; PIRIKAHU, S.; FIRESTONE, S.; KYLE, R.; POPP, J.; JAY, M. epiR: Tools for the Analysis of Epidemiological Data. R package. version 0.9-99, 2018. <https://CRAN.R-project.org/package=epiR>

STOPHER, D. A.; BERESFORD, A. P.; MACRAE, P. V.; HUMPHREY, M. J. The metabolism and pharmacokinetics of amlodipine in humans and animals. **Journal of cardiovascular pharmacology**, 12: 55, 1988.

SUSIC, D.; VARAGIC, J.; FROHLICH, E. D. Pharmacologic agents on cardiovascular mass, coronary dynamics and collagen in aged spontaneously hypertensive rats. **J. Hypertens.**, 17: 1209-1215, 1999.

SUZUKI, S.; FUKUSHIMA, R.; ISHIKAWA, T.; YAMAMOTO, Y.; HAMABE, L.; KIM, S. Comparative effects of amlodipine and benazepril on left atrial pressure in dogs with experimentally-induced mitral valve regurgitation. **BMC Veterinary Research**, 8:166, 2012.

TISSIER, R.; PERROT, S.; ENRIQUEZ, B. Amlodipine: one of the main antihypertensive drugs in veterinary therapeutics. **Journal of Veterinary Cardiology**, 7(1):53-58, 2005.

WARE, Wendy. **Cardiovascular disease in small animal medicine**. CRC Press, 396 p, 2011.

WESS, G.; KRESKEN, J-G.; WENDT, R.; GAUGELE, J.; KILLICH, M.; KELLER, L.; SIMAK, J.; HOLLER, P.; BAUER, A.; KÜCHENHOF, H.; GLAUS, T. Efficacy of adding ramipril (VASotop) to the combination of furosemide (Lasix) and pimobendan (VETmedin) in dogs with mitral valve degeneration: The VALVE trial. **J Vet Intern Med**. 1–10, 2020.

WOUTERS, E. F.; CREUTZBERG, E. C.; SCHOLS, A. M. Systemic effects in COPD. **Chest**, 121(5 Suppl):127S– 30S, 2002.

YAMADA, S.; SUGIMOTO, N.; UCHIDA, S.; DEGUCHI, Y.; KIMURA, R. Pharmacokinetics of amlodipine and its occupancy of calcium antagonist receptors. **J Cardiovasc Pharmacol**, 23:466–472, 1994.

YAO, Q.; AXELSSON, J.; HEIMBURGER, O.; STENVINKEL, P.; LINDHOLM, B. Systemic inflammation in dialysis patients with end-stage renal disease causes and consequences. **Minerva Urol Nefrol**, 56(3): 237– 48, 2004.

ZHANG, X.; HINTZE, T. H. Amlodipine releases nitric oxide from canine coronary microvessels an unexpected mechanism of action of a calcium channel–blocking agent. **Circulation**, 97(6): 576-580, 1998.