

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

TESE

**AVALIAÇÕES CLÍNICO-PATOLÓGICA E
IMUNOHISTOQUÍMICA DE LESÕES CARDÍACAS EM
GATOS (*Felis catus*) COM DOENÇA RENAL CRÔNICA**

GABRIELA DE CARVALHO CID

2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**AVALIAÇÕES CLÍNICO-PATOLÓGICA E
IMUNOHISTOQUÍMICA DE LESÕES CARDÍACAS EM
GATOS (*Felis catus*) COM DOENÇA RENAL CRÔNICA**

GABRIELA DE CARVALHO CID

Sob a orientação da professora
Vivian de Assunção Nogueira

Co-orientação da professora
Heloisa Justen Moreira de Souza

Co-orientação do professor
Tiago da Cunha Peixoto

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Medicina Veterinária** no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de concentração em Patologia Animal

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2020

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Cid, Gabriela, 1988-
C868a AVALIAÇÕES CLÍNICO-PATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA
DE LESÕES CARDÍACAS EM GATOS (Felis catus) COM DOENÇA
RENAL CRÔNICA / Gabriela Cid. -- Niterói, 2020.
83 f. : il.

Orientadora: Vivian de Assunção Nogueira.
Coorientadora: Heloisa Justen Moreira de Souza.
Coorientador: Tiago da Cunha Paixoto.
Tese (Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Medicina
Veterinária, 2020.

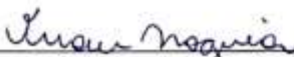
1. Patologia Animal. 2. Doença renal crônica. 3.
Anatomia Patológica. 4. Medicina Felina. 5.
Histopatologia. I. de Assunção Nogueira, Vivian, 1988
, orient. II. Justen Moreira de Souza, Heloisa, 1962
, coorient. III. da Cunha Paixoto, Tiago, 1981-
, coorient. IV Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós Graduação em Medicina
Veterinária. V. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE
MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

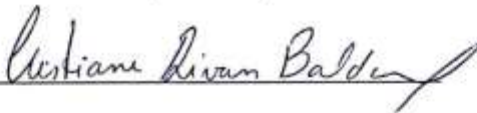
GABRIELA DE CARVALHO CID

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), área de Concentração em Patologia.

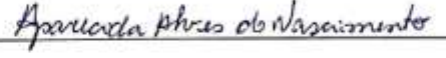
TESE APROVADA EM 04/02/2020




Vivian de Assunção Nogueira, MV, Dra. UFRRJ
(Presidente)



Cristiane Divan Baldani, MV, Dra. UFRRJ



Aparecida Alves do Nascimento, Biol. Dra. UFRRJ



Valéria Duarte Cerqueira, MV, Dra. UFPA



Maria Cristina Nobre Castro, MV, Dra. UFF

“Agradeço todas as dificuldades que
enfrentei; não fosse por elas, eu não teria
saído do lugar. As facilidades nos
impedem de caminhar.”

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, em especial à minha mãe Deize Dias de Carvalho, meu pai Fernando Cezar Rodrigues Cid Júnior, meus irmãos Viviane de Carvalho Cid e Felipe de Carvalho Cid, pelo apoio e encorajamento em todos os momentos da minha vida.

Ao meu companheiro Diego Lopes Salles, pela cumplicidade que me amparou nas angústias do mundo acadêmico.

À minha orientadora Professora Vivian de Assunção Nogueira pela orientação, oportunidade e confiança depositada. Obrigada pelo incentivo, dedicação, paciência e amizade que vai além da rotina profissional.

À minha co-orientadora Professora Heloísa Justen Moreira de Souza pela confiança e incentivo e acima de tudo por acreditar no meu trabalho, que me permitiu associar duas paixões profissionais a Patologia e a Medicina Felina.

Aos Professores Tiago da Cunha Peixoto, Samay Zillmann Rocha Costa e Alexandre José Bendas pela contribuição indispensável para realização deste trabalho.

Aos mestres que influenciaram a minha construção profissional, em especial aos Professores Carlos Hubinger Tokarnia (*in memoriam*), Marilene Farias de Brito, Paulo Vargas Peixoto e Ticiania do Nascimento França pelos ensinamentos transmitidos.

Aos meus amigos e companheiros de trabalho, Ana Paula Pires, André Marandola dos Santos, Bartolomeu Neves, Daniel Ubiali, Gabriela Oliveira, Juliana Rocha, Ileana Miranda, Letícia Pinto, Mariana Correia, Mariana d'Avila e Samay Zillmann, pela cooperação e dedicação em cada tarefa, pelo carinho e amizade, tornando minha caminhada mais saborosa e alegre.

Às amigas que atuam em clínica de felinos Amanda Chaves, Daniela Duarte, Mariana Jardim e Mariana Moura pela atenção, disponibilidade e ajuda indispensável fornecida, essenciais para a realização deste trabalho.

Aos amigos que estiveram do meu lado neste momento, me apoiando e incentivando, com os quais pude compartilhar minhas aflições e sonhos.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e à FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) pelo apoio e concessão das bolsas durante todo o período de realização deste trabalho.

Agradeço à UFRRJ que se tornou a minha segunda casa nesses doze anos de Rural.

RESUMO

CID, Gabriela de Carvalho. Avaliações clínico-patológica e imunohistoquímica de lesões cardíacas em gatos (*Felis catus*) com doença renal crônica. 2020. 86p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada por lesões morfoestruturais irreversíveis, que podem evoluir progressivamente para insuficiência renal crônica e falência renal. Sabe-se que o coração e os rins mantêm estreita relação e a comunicação entre esses órgãos ocorre por uma variedade de vias; alterações fisiológicas sutis em um desses órgãos nem sempre são compensadas pelo outro. A avaliação histopatológica cardíaca mediante a colorações rotineiras são limitadas para identificar lesões específicas ou discretas em cardiomiócitos. O presente trabalho teve como objetivos avaliar os níveis séricos de troponina em gatos com DRC, associados aos achados clínico-patológicos, bem como correlacionar as lesões cardíacas morfoestruturais, a fim de determinar a distribuição destas, por meio da avaliação macroscópica, histológica e imunohistoquímica com anti-cTnI. Neste estudo foram selecionados 20 gatos (18 diagnosticados com DRC e 2 animais controle). Para a aplicação da técnica de imunohistoquímica anti-troponina I humana, necropsias foram realizadas e cada coração coletado separadamente em 8 regiões. Fragmentos do coração de 2 gatos sem lesão cardíaca foram utilizados como controle. Em 11/18 animais (61,11%) a troponina sérica encontrava-se acima dos valores de referência e foram observadas diminuição da expressão para anticorpo-cTnI em cardiomiócitos individuais em 9/18 (50%). Notou-se que o número de regiões com diminuição da expressão para anticorpo-cTnI em cardiomiócitos está significativamente correlacionado com a troponina sérica. O anticorpo anti-TnI humano se mostrou eficaz para detectar lesões cardíacas e demonstrou diminuição da expressão nos cardiomiócitos de gatos com DRC. Houve correlação entre o aumento da cTnI sérica e perda da imunorreatividade na avaliação imunohistoquímica com anticorpo anti-TnI em gatos com DRC o que comprova danos em cardiomiócitos secundários a doença renal.

Palavras chaves: Felino, Cardiologia, Nefrologia, Troponina

ABSTRACT

CID, Gabriela de Carvalho. Clinical-pathological and immunohistochemical evaluations of cardiac lesions in cats (*felis catus*) with chronic renal disease. 2020. 86p. (Doctorate degree in Veterinary Medicine, Animal Pathology). Veterinary Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

Chronic kidney disease (CKD) is characterized by irreversible morphostructural lesions, which may progressively progress to chronic renal failure (CKD) and renal failure. The heart and kidneys are known to be closely related, and communication between these organs occurs in a variety of ways; subtle physiological changes in one of these organs are offset by the other. On microscopic examination, routine histological staining is limited to identify specific or discrete lesions in cardiomyocytes. Many immunohistochemical techniques with high specificity and sensitivity have been developed in order to detect early lesions to cardiomyocytes. At time there are no studies evaluating immunohistochemistry with cardiac Troponin I (anti-cTnI) antibody in the detection of CKD-associated cardiac lesions in domestic cats. Thus, it aims to evaluate serum troponin levels in cats with CKD, associated with clinical-pathological findings, as well as correlated as morphostructural cardiac lesions, in order to determine the daily distribution through macroscopic, histological and immunological evaluation. anti-cTnI histochemistry. The objective of this study was to evaluate serum troponin levels in cats with CKD associated with clinical and pathological findings, as well as to correlate the morphostructural cardiac lesions, in order to determine their distribution through macroscopic, histological and anti-cTnI histochemistry evaluation. In this study, 20 cats (*Felis catus*) diagnosed with CKD were selected. As inclusion criteria, the patients presented stable azotemic biochemical profile examination, were in stage II or higher of International Renal Interest Society (IRIS) and also had clinical signs and complementary exams consistent with the diagnosis of CKD. Necropsies of the 20 animals and fragments of all macroscopically evaluated organs were performed, as well as eight fragments of different regions of the heart (apex, interventricular septum, left ventricle, right ventricle, left papillary muscle, right papillary muscle, left atrium and right atrium) were collected in 10% formalin solution for 24h and routinely processed for histopathology. To perform the human anti-troponin C immunohistochemistry technique, serial sections were obtained from the eight regions of the heart. Serum troponin examination showed data above reference values in 11 animals (55%). In immunohistochemical examination, decreased expression of anti-cTnC was observed in individual cardiomyocytes (affected areas) of nine cats (45%), of which six (66.7%) had only one affected region and three (33.3%) had two affected regions. Of the eight areas observed, the most frequently affected heart region was the apex (41.7%), followed by left ventricle (25%), right papillary muscle (16.7%), left papillary muscle (8.3%). and right ventricle (8.3%). The number of regions with decreased expression for cTnC antibody in cardiomyocytes was found to be strongly and significantly correlated with serum Troponin dosage.

Key words: Feline, Cardiology, Nephrology, Troponin

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1	Corte histológico de coração. Animal controle. Coloração H&E, Objetiva 20X.	39
Figura 2	Corte histológico de coração com expressão para o anticorpo anti-cTnC. Animal controle. Objetiva 20X.	39
Figura 3	Área com poucos cardiomiócitos individuais hipereosinofílicos. Coloração H&E, Objetiva 20X.	40
Figura 4	Diminuição da expressão para o anticorpo anti-cTnC correspondente à área hipereosinofílica de cardiomiócitos individuais. Objetiva 20X.	40
Figura 5	Área extensa com cardiomiócitos hipereosinofílicos. Coloração H&E, Objetiva 63X.	41
Figura 6	Diminuição da expressão para o anticorpo anti-cTnC em área extensa, marcada e bem delimitada correspondente à área com hipereosinofilia de cardiomiócitos. Objetiva 65X.	41
Figura 7	Trato urogenital. Rim direito diminuído e com a superfície irregular. Cornos uterinos moderadamente distendidos e preenchidos por um líquido translúcido (mucometra). Felino 1.	73
Figura 8	Superfície lateral. Rim direito medindo 1,3 x 1,9 cm com severa atrofia. Rim esquerdo medindo 3,0 x 3,2 cm. Ambos os rins com perda de sua arquitetura habitual, apresentando-se arredondados. Felino 5.	74
Figura 9	Superfície lateral. Ambos os rins com aspecto irregular e atrofia renal em rim direito. Gato 4	74
Figura 10	Corte sagital mediano. Rim direito com atrofia renal e alteração de proporções córtex medular. Gato 4.	74
Figura 11	Superfície lateral. Rim direito com severa atrofia renal e com superfície externa irregular. Rim esquerdo com hipoplasia e área de depressão em superfície externa Gato 5	75
Figura 12	Corte sagital mediano. Rim direito com perda da arquitetura habitual ao corte. Nota-se área esbranquiçada irregular, correspondente a área de mineralização. Gato 5.	75
Figura 13	Superfície lateral. Ambos os rins com superfície irregular e perda da arquitetura habitual do órgão. Gato 6.	76
Figura 14	Corte sagital mediano. Ambos os rins com perda da arquitetura habitual do órgão. Gato 6.	76
Figura 15	Focos de estriações esbranquiçadas na musculatura intercostal correspondentes a mineralização. Gato 6.	77
Figura 16	Ambos os rins com atrofia e superfície capsular irregular. Rim direito apresentando área com depressão do parênquima. Gato 12.	77
Figura 17	Corte sagital mediano. Rim esquerdo apresentando dilatação moderada da pelve renal. Gato 12.	78
Figura 18	Superfície lateral. Ambos os rins com atrofia. Gato 15.	78
Figura 19	Estômago apresentando-se levemente edemaciado com áreas arenosas em mucosa. Gato 15.	79
Figura 20	Corte sagital mediano. Ambos os rins apresentando inúmeros cistos com destruição do parênquima renal. Gato 16.	79
Figura 21	Corte sagital mediano. Rim policístico em detalhe. Gato 16.	80

Figura 22	Corte sagital mediano. Ambos os rins com atrofia. Rim direito com presença de cistos. Gato 19.	80
Figura 23	Corção seccionado transversalmente em quatro secções equidistantes.	81
Figura 24A	Oito fragmentos de regiões distintas ápice, septo interventricular, ventrículo esquerdo, ventrículo direito, músculo papilar esquerdo, músculo papilar direito, átrio esquerdo e átrio direito, coletados em frascos previamente identificados contendo solução de formalina tamponada 10%.	81
Figura 24B	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso e moderado intersticial (nefrite crônica). Coloração H&E, Objetiva 10X. Gato 6.	81
Figura 25	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso e moderado intersticial (nefrite crônica). Coloração H&E, Objetiva 10X. Gato 6.	82
Figura 26	Atrofia glomerular com espessamento da cápsula de Bowman. Coloração de H&E, Objetiva 40X. Gato 8.	82
Figura 27	Cápsula de Bowman com ausência de glomérulo e foco discreto de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. Coloração de H&E, Objetiva 40X. Gato.	83
Figura 28	Degeneração vacuolar dos túbulos contorcidos. Coloração de H&E, Objetiva 20X. Gato 2.	83

ÍNDICE DE QUADROS

		PÁGINA
Quadro 1	Classificação da IRIS e exames laboratoriais	31
Quadro 2	Histórico, sinais clínicos, aspectos macroscópicos e microscópicos	33
Quadro 3	Avaliações microscópica e imunohistoquímica do coração	36
Quadro 4	Diminuição da expressão para anticorpo-cTn C em cardiomiócitos por região do coração (%)	37
Quadro 5	Coefficiente de correlação de Spearman da relação do número de regiões com diminuição da expressão para anticorpo-cTnC em cardiomiócitos com variáveis de exames laboratoriais.	37
Quadro 6	Número de felinos (percentual) classificados por Estádio IRIS e número de regiões com perda da eosinofilia em cardiomiócitos.	38

LISTA DE ABREVIACÕES

AD	Átrio Direito
ADH	Hormônio Anti-Diurético
AE	Átrio Esquerdo
CK-MB	Creatinaquinase
cTnT	Anticorpo Troponina T Cardíaca
cTnI	Anticorpo Troponina I Cardíaca
cTnC	Anticorpo Troponina C Cardíaca
DAB	Diaminobenzidina
DR	Doença Renal
DRC	Doença Renal Crônica
ECG	Eletrocardiograma
ET-1	Endotelina-1
H&E	Hematoxilina-Eosina
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IHQ	Imunohistoquímica
IRC	Insuficiência Renal Crônica
NADH	Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
Obj.	Objetiva
Prof^a	Professora
pH	Potencial Hidrogeniônico
PTH	Paratormônio
RSHP	Hiperparatireoidismo secundário renal
SCR	Síndrome Cardiorrenal
SDMA	Dimetilarginina simétrica
SNS	Sistema Nervoso Simpático
SRAA	Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
SRD	Sem Raça Definida
T°C	Temperatura em Graus Celsius
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TnT	Troponina T
TnC	Troponina C
TnI	Troponina I
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 FISILOGIA RENAL	3
2.2 DOENÇA RENAL CRÔNICA	4
2.2.1 Diagnóstico da doença renal crônica	4
2.2.2 Estadiamento da doença renal crônica	5
2.2.3 Azotemia <i>versus</i> uremia	5
2.2.4 Achados macroscópicos e microscópicos da DRC em gatos	6
2.2.5 Lesões extrarrenais	8
2.3 SÍNDROME CARDIORRENAL	11
2.4 BIOMARCADORES CELULARES E PLASMÁTICOS NA DETECÇÃO DE INJÚRIAS CARDÍACAS	14
2.4.1 Troponina	16
2.4.2 Troponina I	16
2.4.3 Troponina I sérica em cães e gatos com DRC	17
2.4.4 Causas de troponinemia em gatos	19
2.5 IMUNOHISTOQUÍMICA COM ANTICORPO ANTITROPONINA	20
3. METODOLOGIA GERAL	21
CAPÍTULO ÚNICO	25
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
ANEXOS	61
A Termo de consentimento dos proprietários dos gatos para inclusão dos animais no protocolo experimental	62
B Termo de consentimento livre esclarecido necropsia	63
C Ficha de identificação, histórico, anamnese e sinais clínicos	64
D Exames hematológicos, bioquímicos, Dosagem de Troponina e classificação da IRIS	65
E Ficha de necropsia	66
F Quadro de identificação e dados dos animais	68
G Quadro dos exames realizados para cada animal	69
H Valores dos exames de creatinina realizados em cada consulta	70
I Valores dos exames de ureia realizados em cada consulta	71
J Regiões com perda da eosinofilia em cardiomiócitos individuais	72
K Certificado de aprovação CEUA/UFRRJ	73
L Imagens lesões macroscópicas e microscópicas	74

1. INTRODUÇÃO GERAL

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada por lesões morfoestruturais irreversíveis, que podem evoluir progressivamente para insuficiência renal crônica (IRC) e falência renal (Polzin et al. 2005). A insuficiência renal leva à ruptura de funções metabólicas e endócrinas, bem como a distúrbios hidroeletrolítico e ácido básico (Ribeiro et al. 2008), além de alterações na função cardíaca (Martin & Franco 2005).

Sabe-se que, o coração e os rins mantêm estreita relação e a comunicação entre esses órgãos ocorre por uma variedade de vias; alterações fisiológicas sutis em um desses órgãos nem sempre são compensadas pelo outro (Viswanathan et al. 2011). As alterações cardíacas em seres humanos portadores de insuficiência renal crônica foram descritas pela primeira vez em 1947. Macroscopicamente, havia acentuada hipertrofia ventricular e fibrose e, ao exame histológico do miocárdio, observou-se edema intersticial intenso. Nesse estudo, sugeriu-se que a causa da morte havia sido a uremia, tendo em vista que a diálise clínica rotineira não era disponível na época (Langendorf & Pirani 1947). As cardiopatias, quando associadas às nefropatias, podem ter evolução mais rápida e de difícil controle. A DRC pode provocar anemia, descontrole dos níveis de colesterol e triglicérides e dificultar o controle da pressão arterial. Em humanos acelera o processo de aterosclerose, com posterior mineralização e formação de placas ateromatosas nas artérias cerebrais e coronarianas, o que pode ocasionar infarto do miocárdio (Ronco et al. 2008).

As colorações rotineiras são limitadas para evidenciar lesões específicas ou discretas em cardiomiócitos (Stigger et al. 2001; Carmo et al., 2011). Diversas técnicas imuno-histoquímicas com alta especificidade e sensibilidade têm sido desenvolvidas no intuito de se detectar danos aos cardiomiócitos. Entre essas, a troponina cardíaca tem apresentado bons resultados em bovinos (Ortmann et al. 2000; Pavarini et al. 2012; Bandinelli et al. 2014; Santos et al. 2016), ovinos (Costa et al. 2016) e em cães (D'ávila et al. 2016). Os cardiomiócitos necróticos, detectáveis ou não pelos exames rotineiros de microscopia óptica, apresentam imunomarcagem negativa, enquanto os não-afetados são positivos para a troponina (Jenkins et al. 2010; Bandinelli et al. 2014; Costa et al. 2016; Santos et al. 2014; D'ávila et al. 2016).

Até o momento, não havia estudos que avaliassem a imunohistoquímica com anti-cTnC na detecção de lesões cardíacas em gatos domésticos. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivos avaliar os níveis séricos de troponina I em gatos com DRC, associados aos achados clínico-patológicos, bem como correlacionar as

lesões cardíacas morfoestruturais, a fim de determinar a distribuição destas, por meio da avaliação macroscópica, histológica e imunohistoquímica com anti-cTnI.

2. REVISÃO DE LITERATURA

1. Fisiologia renal

Os rins são órgãos que possuem um conjunto diversificado de funções para manter a homeostasia corpórea (CUNNINGHAM, 1997; LUNN, 2011). O néfron é a unidade funcional do rim e inclui o corpúsculo renal (cápsula de Bowman com glomérulo) e um sistema tubular, com os túbulos contorcidos proximais, alça de Henle e o túbulo contorcido distal, que termina nos túbulos coletores (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009; SINGH et al., 2012). Nos mamíferos, os rins recebem aproximadamente 25% do débito cardíaco (VERLANDER, 2008). Essas funções renais podem ser divididas em cinco componentes básicos: formação de urina, regulação ácido-base, manutenção da homeostase hídrica, equilíbrio eletrolítico e função endócrina (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009).

A formação de urina tem como objetivo eliminar resíduos metabólicos (VERLANDER, 2008; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009), porém as substâncias requeridas pelo organismo, incluindo proteínas de baixo peso molecular, água e uma série de eletrólitos, devem ser reabsorvidas (VERLANDER, 2008). A conservação da água ocorre através da reabsorção pelos túbulos contorcidos proximais, mecanismo de contracorrente da alça de Henle, atividade do hormônio antidiurético (ADH) nos túbulos distais e gradiente de ureia da medular. O sistema tubular é capaz de absorver 99% da água do filtrado glomerular (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009).

A regulação ácido-básica se dá predominantemente através de recuperação do bicarbonato do filtrado glomerular e do equilíbrio eletrolítico pela manutenção da concentração extracelular normal de íons (como potássio), pela reabsorção passiva nos túbulos proximais e da secreção tubular distal, sob a influência da aldosterona (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009).

A função endócrina ocorre através de três eixos hormonais: eritropoietina, renina-angiotensina-aldosterona e vitamina D (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009). A produção e a liberação de hormônios pelos rins desempenham papel vital no controle da pressão arterial sistêmica (VERLANDER, 2008) e na produção de glóbulos vermelhos (VERLANDER, 2008; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009), pois a eritropoietina é produzida em resposta à baixa tensão de oxigênio e, quando liberada na circulação sanguínea, estimula a medula óssea a produzir eritrócitos (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009). A vitamina D precisa ser convertida nos rins para sua forma mais

ativa, o calcitriol, e isso facilita a absorção de cálcio pelo intestino (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009).

2.2 Doença Renal Crônica

O termo Doença Renal Crônica (DRC) é utilizado para definir a presença de lesão morfoestrutural renal persistente pelo período mínimo de três meses, caracterizada pela perda definitiva e irreversível de massa funcional e/ou estrutural de um ou de ambos os rins, e pode-se observar redução da taxa de filtração glomerular (TFG) de até 50% em relação ao seu normal (POLZIN et al., 2005), acompanhada da perda gradual do número de néfrons funcionais (MCGROTTY, 2008).

A DRC ocorre com alta frequência em animais de companhia, com prevalência de 30 a 40% na espécie felina (POLZIN, 2005). Como consequência, tem-se a diminuição da capacidade desse órgão em concentrar e eliminar determinadas substâncias tóxicas, que em condições normais são eliminadas do organismo por excreção renal.

2.2.1 Diagnóstico da Doença Renal Crônica

O diagnóstico da DRC é embasado no histórico e anamnese, exame físico, alterações laboratoriais e ainda, pela presença de lesões estruturais nos rins (biópsia e/ou exames de imagem como ultrassonografia e raio-x) (POLZIN et al., 2005).

Ademais, a disfunção renal é avaliada por marcadores sanguíneos e urinários. As alterações laboratoriais que podem ser encontradas consistem em aumento das concentrações séricas de ureia e creatinina, hiperfosfatemia, alterações eletrolíticas, acidose metabólica, hipoalbuminemia, anemia não regenerativa e aumento sérico de amilase e lipase (POLZIN et al., 2005; MCGROTTY, 2008). Como marcador urinário, a isostenúria reflete a inabilidade renal em concentrar a urina. Esse achado pode ser uma das primeiras manifestações clínicas da DRC (MCGROTTY, 2008). Outras variáveis incluem proteinúria, cilindrúria, hematúria renal, alterações do pH urinário, glicosúria renal e/ou cistinúria (POLZIN et al., 2005).

Para avaliação de função renal, os testes mais comumente utilizados na Medicina Veterinária são as mensurações das concentrações séricas de creatinina e ureia, porém, uma vez que esses compostos apresentam alteração somente quando permanece 75% do acometimento da funcionalidade dos rins, são considerados tardios para o

diagnóstico (DIBARTOLA; WESTROPP, 2000). O estadiamento IRIS (Sociedade Internacional de Interesse Renal) para doença renal crônica, é baseado na concentração sérica de creatinina, entretanto há comprovações em relação ao aumento da concentração da Dimetilarginina simétrica (SDMA) no soro ou plasma do sangue considerando-o como um marcador sensível de comprometimento da função renal (GRAUER, 2017).

2.2.2 Estadiamento da Doença Renal Crônica

A classificação entre os estádios da DRC é feita para se estabelecer condutas terapêuticas, a fim de melhorar a qualidade de vida, retardar a progressão da doença, aumentar a expectativa de vida e reduzir as complicações inerentes a sua evolução. A Sociedade Internacional de Interesse Renal (International Renal Interest Society – IRIS) propõe um sistema de classificação composto por quatro estádios de evolução da DRC em gatos. Esses estádios foram estabelecidos de acordo com as concentrações séricas de creatinina. Os valores de creatinina sérica devem ser obtidos do paciente em jejum e hidratado, em dois ou três momentos diferentes ao longo de algumas semanas. O Estádio I da DRC define-se por estado não azotêmico, mas com alguma alteração renal presente, tal como incapacidade de concentração urinária, proteinúria renal e alterações renais ao exame de imagem e de biópsia. O Estádio II da DRC caracteriza-se pela presença de discreta azotemia em avaliações seriadas (creatinina sérica entre 1,6 a 2,8mg/dL para gatos). Pacientes nos estádios I e II não apresentam manifestações clínicas de disfunção renal à exceção de poliúria e polidipsia. O estágio III da DRC é definido pela presença de azotemia em grau moderado (creatinina sérica entre 2,9 e 5,0mg/dL para gatos). A progressão da DRC nos pacientes desse Estádio geralmente está ligada aos mecanismos de progressão espontânea da doença (autoperpetuação), mas pode também estar relacionada a causas desencadeantes. O estágio IV da DRC caracteriza-se pela presença de intensa azotemia (creatinina sérica superior a 5,0mg/dL). Nesse estágio o paciente apresenta importante perda da função renal que pode estar relacionada à falência renal e apresentar diversas manifestações sistêmicas de uremia como alterações gastrintestinais, neuromusculares ou cardiovasculares.

2.2.3 Azotemia versus Uremia

O termo azotemia, refere-se à retenção de resíduos nitrogenados não proteicos no sangue, como a ureia e a creatinina, que em circunstâncias normais, são eliminadas pelos rins através da urina. A azotemia não está evidente em casos de insuficiência renal até que mais de 75% da função esteja prejudicada. Ela pode ser classificada de acordo com suas causas, em azotemia pré renal onde deve-se a pressão de perfusão renal inadequada, a concentração de proteína plasmática muito elevada ou ao aumento do catabolismo proteico. A azotemia renal é provocada por disfunção renal que tem como consequência a retenção de resíduos nitrogenados e a azotemia pós renal pode ocorrer devido a obstrução do fluxo urinário ou a ruptura das vias urinárias inferiores (BROVIDA et al., 2004).

A uremia é caracterizada pela síndrome tóxica polissistêmica que resulta de uma função renal anormal em pacientes azotêmicos, e ocorre simultaneamente com os níveis aumentados de constituintes urinários no sangue. A uremia, nada mais é, do que o resultado do estado clínico onde todas as doenças renais e progressivas se convergem (OLIVEIRA, 2004).

2.2.4 Aspectos macroscópicos e microscópicos da DRC em gatos

Dados clínico-patológicos são úteis no diagnóstico, estadiamento e prognóstico da DRC em felinos, todavia fornecem poucos subsídios sobre a distribuição e o padrão de lesões no rim. Portanto, é difícil determinar quais estádios são caracterizados por lesões irreversíveis e que intervenções terapêuticas devem ser direcionadas (MCLELAND et al., 2015).

Macroscopicamente, os rins apresentam-se diminuídos de tamanho, uni ou bilateralmente, com superfície capsular irregular (BROWN et al., 2016). São descritas como alterações histológicas nos rins em gatos portadores de DRC doenças glomerulares primárias (GLICK et al., 1978; NASH, 1979) e amiloidose (BOYCE et al., 1984; ASPRONI et al., 2013) que podem resultar em complicações túbulo-intersticiais. A maioria dos gatos geriátricos com DRC não possuem evidência histológica de doença glomerular primária (LUCKE et al., 1968; CHAKRABARTI et al., 2013; MCLELAND et al., 2015) e, em sua maioria, as lesões primárias estão dentro do compartimento túbulo-intersticial, o que leva a lesões escleróticas secundárias suaves e leves (CHAKRABARTI et al., 2013; MCLELAND et al., 2015).

Em um estudo de Mcleland e colaboradores (2015), as lesões histológicas que afetam todos os compartimentos renais foram identificados para cada estágio da DRC. Este estudo demonstrou que lesões reversíveis estavam presentes ao longo dos estágios da DRC, entretanto lesões irreversíveis foram mais prevalentes em estágios posteriores. Neste trabalho, documentaram-se diferenças nas lesões e padrões histológicos entre os estágios da DRC, como resumido abaixo.

O estágio I é caracterizado por parênquima renal normal remanescente (51% a 75%), inflamação intersticial exclusivamente constituída de linfócitos em distribuição regionalmente extensa. Cicatrizes corticais e medulares (presença de colágeno matriz visível com coloração tricrômica) quase ausente. Degeneração tubular leve, focal à dispersa, significativamente menos grave que nos estágios posteriores (estágios III e IV). Necrose unicelular de células epiteliais tubulares (caracterizada por perda de adesão da membrana basal, núcleos em cariorrexe e citoplasma hipereosinofílico). Glomerulosclerose ocorre em menor frequência e outras lesões glomerulares e vasculares estão ausentes (MCLELAND et al., 2015).

O estágio II é definido pela quantidade de parênquima normal remanescente (51% a 75%) e gravidade da inflamação (menor que 25%) com tipo celular presente de linfócitos e plasmócitos e com menos frequência macrófagos e neutrófilos. Cicatrização cortical e medular significativamente maior. A presença de lipídio intersticial é mais frequente e a degeneração tubular é moderada, com necrose epitelial presente. A glomerulosclerose pode ser de leve a moderada e outras lesões glomerulares são menos frequentes, com descrição de glomerulonefrite membranoproliferativa, glomerulosclerose segmentar focal, atrofia glomerular cística ou expansão mesangial. Há espessamento da cápsula de Bowman com ou sem hipertrofia celular parietal. Lesões vasculares incluem hiperplasia fibrointimal, arteriosclerose hiperplásica, hialinose e vasos tortuosos em regiões de cicatrizes (MCLELAND et al., 2015).

O estágio III é determinado por 25% a 50% do parênquima significativamente alterado. A inflamação intersticial caracterizada por infiltrado regionalmente extenso de linfócitos acompanhados por plasmócitos, macrófagos e neutrófilos. A gravidade das cicatrizes renais e degeneração tubular são moderadas a grave. Há glomerulosclerose global significativa e outras lesões também são observadas (glomerulosclerose segmentar focal, microangiopatia trombótica, glomerulonefrite membranoproliferativa). Espessamento da cápsula de Bowman, hipertrofia endotelial e parietal e arteriosclerose hiperplásica são verificadas com maior frequência (MCLELAND et al., 2015).

O estágio IV é representado por parênquima significativamente menos normal do que qualquer outro grupo, com inflamação afetando 51% a 75% da seção de tecido, que consiste em linfócitos e plasmócitos. A cicatrização cortical (25% a 50%) é tipicamente maior que cicatriz medular (menor que 25%) ou seja, a cicatrização cortical é significativamente maior no estágio IV que todos os outros grupos. Os lipídios intersticiais estão presentes em grande extensão, bem como a degeneração tubular e necrose das células epiteliais tubulares. A dilatação tubular e os cistos são mais prevalentes do que nos estádios I e II, respectivamente. A glomerulosclerose global é mais grave nesta fase em comparação com todos os outros grupos, além de lesões como glomerulosclerose segmentar focal, hipertrofia glomerular, expansão mesangial, hipertrofia endotelial, padrão glomerulonefrite membranoproliferativa e hipertrofia glomerular cística (MCLELAND et al., 2015).

2.2.5 Lesões extrarrenais

As lesões extrarrenais da uremia podem ser desencadeadas por glomerulonefrite crônica, nefrose tubular aguda, associação de nefrose tubular e nefrite intersticial agudas, nefrite intersticial crônica, nefrite intersticial subaguda, infarto, glomerulonefrite subaguda, associação de glomerulonefrite e nefrite intersticial crônicas, cistadenocarcinoma bilateral e amiloidose. Uremia de origem pós-renal pode ser causada por urolitíase na pelve ou urolitíase vesical e uretral, associadas à pielonefrite crônica e pielonefrite aguda, respectivamente (DANTAS; KOMMERS, 1997). As lesões ocorrem de forma inconstante e imprevisível e são frequentemente observadas nos sistemas gastrointestinal, cardiovascular, respiratório e músculo esquelético (MAXIE; NEWMAN, 2007).

As complicações gastrointestinais estão entre as manifestações mais comuns e proeminentes observados em consequência da uremia em gatos. Durante a evolução da DRC, a integridade do trato gastrointestinal (TGI) pode ser afetada. Observam-se perda de peso e anorexia como achados clínicos relevantes e multifatoriais nessa patologia, além do quadro de desidratação, úlceras orais e gástricas, episódios de vômitos e diarreia (BROVIDA et al., 2004). Ettinger e colaboradores (2004) relatam disfagia e desconforto oral em 7,7% dos felinos com quadro de uremia.

Fatores que promovem a perda de peso e má nutrição incluem a anorexia, vômitos e diarreia, pela redução no aporte de nutrientes, distúrbios hormonais e metabólicos, além de fatores catabólicos relacionados à uremia, como a acidose. Manifestações de náuseas

e vômitos são resultados de inúmeros fatores para a estimulação da zona quimiorreceptora pelas toxinas urêmicas (BROVIDA et al., 2004).

As complicações hematológicas ocorrem em consequência da redução da massa renal funcional, que por sua vez é responsável pela síntese de eritropoietina, e atua como fator de produção de hemácias, o que leva ao paciente com DRC a um quadro de anemia, em casos avançados resultam em sinais clínicos de letargia e fraqueza. Pacientes com DRC são propensos a hemorragia, disfunção hemostática primária e hemorragia gastrointestinal devido a diminuição da agregação e função plaquetária pela presença de toxinas urêmicas, diminuição das concentrações de tromboxano A₂ e alteração do metabolismo intracelular de cálcio (BROVIDA et al., 2004). Os sinais clínicos referentes à anemia incluem as mucosas pálidas, fadiga, letargia e anorexia (POLZIN et al., 2005).

Os rins são órgãos importantes para regulação da pressão sistêmica sanguínea pela excreção controlada de sódio e água, por isso em pacientes diagnosticados com DRC, este mecanismo é prejudicado, o que permite o estabelecimento de um quadro de hipertensão (BROVIDA et al., 2004). A hipertensão sistêmica é uma das complicações cardiovasculares mais frequentemente reconhecidas da DRC em cães e gatos (COWGILL; KALLET, 1986), onde relata-se principalmente sua origem secundária (ACIERNO; LABATO, 2005). Vários fatores em combinação levam ao desenvolvimento de uma hipertensão sistêmica secundária, como ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona; aumento dos níveis séricos de epinefrina e norepinefrina; aumento da resposta vascular a norepinefrina; diminuição da atividade do sistema cinina-caliceína; aumento do débito cardíaco; elevação de vasopressina, com consequente vasoconstrição e efeito prolongado da redução de excreção hídrica pelos rins; aumento da resistência periférica (ROSS, 1992; SCHIFFRIN et al., 2007). A ocorrência de hipertensão arterial segundo Ettinger e colaboradores (2004), é relatada em aproximadamente dois terços dos gatos diagnosticados com DRC.

No sistema esquelético, o aumento do paratormônio (PTH) é capaz de provocar vários distúrbios orgânicos, além de ser o principal responsável pelo desequilíbrio no metabolismo de cálcio, dos pacientes com DRC (VANHOLDER; SMET, 1999; DHONT et al., 2000; VANHOLDER; LAECKE, 2008). Suas elevadas concentrações séricas circulantes e consequente desenvolvimento de hiperparatireoidismo acarretam no aparecimento de alterações ósseas (POLZIN; OSBORNE, 1995).

A perda progressiva de néfrons funcionais leva ao aumento do fósforo pela diminuição da taxa de filtração glomerular e a ativação reduzida de 25OHD para calcitriol através da redução da atividade de 1 α -hidroxilase, os quais causaram uma diminuição

no iCa. Hiperfosfatemia, hipocalcemia ionizada e redução do calcitriol resultam na secreção de PTH que por sua vez tem sido reconhecido como uma toxina urêmica que pode contribuir para o desenvolvimento de osteodistrofia renal, supressão da medula óssea, anemia e progressão da DRC em humanos e cães, entretanto não foi estudado especificamente em gatos. É provável que o aumento da secreção do PTH em pacientes com RSHF seja causado principalmente pela hiperplasia do PTG, pois cada célula contribui com uma porção da secreção de PTH que pode ser suprimida. Evidências mais recentes mostraram que existem outros fatores hormonais que influenciam as relações entre os metabólitos de cálcio, fósforo e vitamina D. O fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23) desempenha um papel importante na regulação do fósforo e foi associado independentemente à progressão da DRC. Estimulada pela hiperfosfatemia e aumento das concentrações de calcitriol, o FGF-23 é uma fosfatona, sintetizada e secretada por osteoblastos e osteócitos que promove a excreção de fósforo renal (ARKER et al., 2015).

A hipocalcemia aparece como achado relativamente comum na DRC, sobretudo associada à hiperfosfatemia e baixas concentrações séricas de calcitriol (POLZIN et al., 2000). Esta é detectada mais frequentemente quando se avalia a fração do cálcio biologicamente ativa o cálcio ionizado, do que pela determinação somente do cálcio total sérico (KOGIKA, 2002). O cálcio ionizado, componente do cálcio plasmático é considerado como a fração mais importante do cálcio, por estar envolvido em os processos fisiológicos tais como a regulação da secreção e ação hormonal (PTH e 1,25 diidroxivitamina D); transporte de íons; contração muscular; coagulação sanguínea; mineralização de ossos e integridade de membranas plasmáticas (FELDMAN, 1995). O mecanismo pelo qual se desenvolve a hipercalcemia é complexo ou multifatorial, envolvendo o aumento da reabsorção óssea mediada pelo PTH; a secreção autônoma de PTH pelas paratireóides; a menor degradação e eliminação do PTH e de seus metabólitos pelos rins; a diminuição da excreção renal de cálcio devido à redução da TFG; o aumento da reabsorção de cálcio intestinal devido ao aumento da sensibilidade ao calcitriol e a elevação da fração de cálcio ligado a proteínas ou formando complexos com os ânions (citrato, bicarbonato, fosfato ou sulfato) (CHEW; CAROTHERS, 1989).

A acidose metabólica constituiu uma anormalidade comum em pacientes DRC. Esta agrava o desenvolvimento da anorexia, náusea, vômito, letargia, fraqueza, perda muscular pela indução de seu catabolismo e má nutrição, além de predispor à perda urinária de cálcio, e por mecanismos compensatórios, à reabsorção óssea e ao comprometimento da síntese de calcitriol (SUTTON; DIRKS, 1996). A acidemia intensa pode ocasionar a

diminuição do débito cardíaco, da pressão arterial, dos fluxos sanguíneos nos rins e hepático, e a centralização do volume sanguíneo (POLZIN et al., 2000). Existem hipóteses de que os rins dos felinos respondem de maneira diferente à acidose metabólica quando comparados a outras espécies de mamíferos, onde para eles, a acidose metabólica não aumenta a taxa de produção de amônia pelas células dos túbulos contorcidos proximais (BROVIDA et al., 2004).

2.3 Síndrome cardiorenal

O coração e os rins mantêm a homeostasia hemodinâmica e perfusão adequada de órgãos através de uma estreita relação que regula o débito cardíaco, volume e tônus vascular. Nos seres humanos, as interações patológicas entre esses dois sistemas orgânicos são cada vez mais definidas. O termo “síndrome cardiorenal (SRC)” é definido como “distúrbios do coração e rins pelos quais a disfunção aguda ou crônica de um órgão pode induzir disfunção aguda ou crônica do outro”, vem sendo adaptado na medicina para descrever essa interação patológica (RONCO et al., 2010).

As alterações fisiológicas sutis em um desses órgãos são compensadas pelo outro. Essa comunicação ocorre por uma variedade de vias, incluindo pressão de perfusão, pressão de enchimento e atividade neuro-hormonal. Em particular alguns dos principais mediadores incluem sistema nervoso simpático, eixo renina-angiotensina-aldosterona SRAA) e o peptídeo natriurético atrial. Esses agentes têm receptores nos rins, vasos e no coração e afetam o estado de volume, tônus vascular, débito cardíaco e inotropia (VISWANATHAN; GILBERT, 2011).

Essa relação existe independentemente da doença inicial ser cardíaca ou renal (SCHRIER, 2007). O órgão que está afetado pode iniciar e perpetuar o distúrbio dos dois órgãos através de uma combinação complexa de mecanismos de *feed-back* neuro-hormonais seja de forma direta ou indireta (RONCO et al., 2008c).

As causas da insuficiência renal associadas à insuficiência cardíaca são muitas, entre elas, a diminuição da perfusão renal leva à insuficiência do órgão (HEYWOOD, 2004; RONCO et al., 2008c). Este suprimento sanguíneo inadequado pode ser secundário à hipovolemia (diminuição pré-carga), por vasoconstrição mediada por neuro-hormônios (aumento da pós-carga), hipotensão com débito cardíaco preservado (choque vasodilatador) ou síndrome com baixo débito (HEYWOOD, 2004). Quando essa pressão na perfusão é diminuída, a ativação do SRAA leva à produção de angiotensina II e conseqüente elevação da resistência da artéria eferente para preservar a

pressão hidrostática intraglomerular e manter a taxa de filtração glomerular. Simultaneamente, a artéria eferente, sob controle do mecanismo de retroalimentação túbulo-glomerular e prostaglandinas, dilata para aumentar a pressão de perfusão no glomérulo (VISWANATHAN; GILBERT, 2011).

Essas alterações promovem respostas compensatórias sistêmica e intra-renais, com o objetivo de reter fluidos e restaurar o débito cardíaco. Com a progressão da disfunção cardíaca, esses mecanismos compensatórios se tornam deletérios, uma vez que não são suficientes para restaurar o débito cardíaco e acabam por condicionar disfunção renal (MARTINS et al., 2011). A ativação do SRAA faz com o que o sistema nervoso simpático seja ativado e como consequência leva a respostas como vasoconstrição e/ou aumento do débito cardíaco, com estímulo para secreção de renina (REID, 1992). Além de estimular o recrutamento de células inflamatórias mononucleares através de processo mediado por quimiocina e fatores de transcrição específicos (RUIZ-ORTEGA; LORENZO; EGIDO, 2000), ativação de NADH e NADPH-oxidase, que estimulam a formação de espécies reativas de oxigênio (superóxido) (GRIENGLING et al., 1994) e expressão de endotelina-1 (ET-1) no rim, um potente peptídeo vasoconstritor (RONCO, 2008a).

Embora haja comparação entre a medicina e a veterinária, as manifestações do coração e renais diferem entre as espécies, o que limita assim a validade de derivar informações de dados humanos para aplicação em veterinária, bem como comparações entre cães e gatos. As doenças cardíacas em humanos estão relacionadas principalmente à hipertensão e doença arterial coronariana, diferente dos cães (primária valvular, cardiomiopatia dilatada e dirofilariose) e gatos (cardiomiopatia hipertrófica, outras miopatias e, em menor grau, hipertensão arterial sistêmica). Da mesma forma que as doenças renais em humano (doença glomerular, nefropatia diabética, nefrosclerose, nefrite intersticial e doença renal policística (HOU et al., 2006), não se correlacionam com os observados em cães (doença glomerular, pielonefrite, necrose tubular aguda, doença túbulo-intersticial) e gatos (doença renal crônica em fase terminal idiopática, caracterizada com mais frequência por fibrose túbulo-intersticial, tipicamente de origem desconhecida (CHAKRABARTI et al., 2013). No entanto, existem alguns aspectos das doenças e sua fisiopatologia que justificam e aplicação de descobertas humanas em medicina veterinária (POUCHELON et al., 2015).

Com o objetivo de desenvolver definições, recomendações, fornecer diretrizes gerais para o tratamento de pacientes com SCR com ênfase na interação potencial entre os dois sistemas orgânicos e para aumentar a conscientização sobre a SCR que merece

mais pesquisas em cães e gatos, foi criado o Grupo consenso de SRC, composto por 16 instituições acadêmicas e clínicas especialistas, incluindo nove cardiologistas veterinários e sete veterinários nefrologistas da Europa e América do Norte. Optou por se referir à SCR em pacientes veterinários como distúrbios cardiovasculares renais (DCvR). Prevê-se que o DCvR no cão e gato seja amplamente variada entre indivíduos e entre espécies, o que impede desta maneira a descrição como uma síndrome clínica única (POUCHELON et al., 2015).

Pouchelon e colaboradores (2015) firmaram conceitos sobre a definição, classificação e fisiopatologia dos DCvR. Em primeiro lugar, distúrbios cardiovasculares renais são definidos como doença, toxina ou dano estrutural e/ou funcional induzido por droga para o rim e/ou sistema cardiovascular, levando à ruptura das interações normais entre esses sistemas, para o contínuo detrimento de um ou de ambos; o DCvR inclui os subgrupos que refletem (A) doença renal/disfunção emanada de uma doença que envolve o sistema cardiovascular; (B) \doença cardiovascular/disfunção secundária a doença renal e comprometimento concomitante de ambos os sistemas causados por doenças cardiovasculares primárias e doença renal; (C) outros processos, drogas, toxinas ou tóxicos que afetam ambos os sistemas. As três categorias podem ser mais subdividida em doença estável ou doença instável na apresentação clínica do paciente. Sobre epidemiologia, aspectos clínicos e diagnóstico da DCvR, apesar da falta de dados específicos sobre a fisiopatologia em medicina veterinária, a literatura sugere que em animais se compartilha alguns padrões comuns com a SRC humana, a saber, o complexo interação de alterações hemodinâmicas, ativação neuro-hormonal e espécies reativas de oxigênio. No que se refere à lesão renal ou disfunção emanada de um processo primário de doença envolvendo o sistema cardiovascular (A), os mecanismos potenciais da DCvR incluem a diminuição da perfusão renal secundário a diminuição do débito cardíaco; ativação do sistema neuroendócrino, nomeadamente a renina-angiotensina-aldosterona sistema (SRAA) e sistema nervoso simpático (SNS); geração de espécies reativas de oxigênio por endoteliais anormais ou tecidos lesionados e congestão venosa passiva do rim (HAASE et al. 2013, MCCULLOUGH et al. 2013). Redução aguda no débito cardíaco pode levar à diminuição da filtração glomerular, aumento da creatinina sérica e nitrogênio da uréia no sangue e diminuição da produção de urina. Em ambos humanos e animais, o aumento da creatinina tão pouco quanto 0,3 mg / dL (26,5 μ mol / L) são considerados indicativos de lesão renal aguda. No que refere-se à lesão ou disfunção cardiovascular que emana de um processo primário de doença envolvendo o rim, há poucas evidências diretas em cães e gatos (WILSON et al., 2010), bem como

visto em humanos (RONCO et al., 2008c). Existem em ambos, hipóteses meramente suspeitas dos efeitos negativos da doença renal no sistema cardiovascular (BAGSHAW et al. 2013, TUMLIN et al., 2013, RONCO & DI LULLO, 2014). Dentre as deduções, as anormalidades eletrolíticas, como hipercalemia, pode complicar tanto a lesão aguda quanto a DRC e estão associados com arritmias cardíacas (BAGSHAW et al., 2013). A lesão renal também pode levar a sobrecarga de volume sistêmico que contribui para o congestionamento, especialmente em animais com doenças cardíacas coexistentes, como valvopatia, cardiomiopatia dilatada, disfunção diastólica (cardiomiopatia hipertrófica e doença cardíaca hipertensiva) e a anemia grave (WILSON et al., 2010). A anemia da DRC é pouco provável que tenha um papel significativo, pois é tipicamente de baixo grau. A hipertensão arterial é uma seqüela comum à DRC e pode resultar em hipertrofia e disfunção do miocárdio em gatos e cães e a azotemia em si pode ter efeitos adversos nos miócitos cardíacos (SAMPEDRANO et al., 2006). Finalmente a lesão ou disfunção renal e cardiovascular emanando de um processo primário de doença fora dos dois sistemas ou casos em que os rins e doenças cardiovasculares coexistem, atualmente essas interações são pouco definidas e há falta de publicações e evidências para elas em cães e gatos (POUCHELON et al. 2015).

2.4 Biomarcadores celulares e plasmáticos na detecção de injúrias cardíacas

Os biomarcadores têm como objetivo mensurar e avaliar a normalidade biológica de processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica (BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING Grupo 2001), ou seja, qualquer biomarcador em particular reflete a gravidade do processo patológico e pode ser usado para avaliar o risco de eventos adversos, prever resultados e orientar terapia. Na medicina veterinária, os biomarcadores se referem a substâncias que podem ser medidas no sangue ou na urina (POUCHELON et al., 2015).

A injúria cardíaca é seguida pela liberação de constituintes celulares na corrente sanguínea. Assim, marcadores podem ser mensurados na rotina clínica a fim de estimar as extensões dos danos celulares no miocárdio (GODOY; BRAILE; NETO, 1998). A existência de biomarcadores em doenças renais ou cardiovasculares pode ser usada especificamente para diagnosticar, prever resultados ou orientar a terapia na DRC, entretanto, atualmente, não existem biomarcadores específicos para DCvR. As consequências de doenças cardíacas ou terapia instituídas nas cardiopatias nos rins devem ser avaliados com testes tradicionais da função/dano renal, bem como

biomarcadores cardíacos mais recentes, como peptídeo natriurético do tipo **N-terminal pro-B** (NT-proBNP) e troponina-I cardíaca (cTnI) que podem ser úteis para a estabelecimento de doença cardíaca ou lesão cardíaca (POUCHELON et al., 2015).

Avaliação das taxas da enzima **creatinaquinase (CK-MB)** pode ser feita de forma rápida e com baixo custo, para confirmar o diagnóstico, monitorar a evolução e estimar o tamanho da lesão no miocárdio. O mesmo pode ser empregado ao uso da enzima **desidrogenase láctica (LDH)** (GODOY; BRAILE; NETO, 1998).

No entanto, alguns fatores levam a limitação do uso desses marcadores. Os níveis de creatinaquinase no soro de pacientes com infarto agudo do miocárdio (IAM) demoram a ficar elevados, isso só ocorre algumas horas após o aparecimento da dor, e o diagnóstico passa a depender de alterações eletrocardiográficas que são inconclusivas em até 40% dos pacientes. Além disso, a especificidade se torna comprometida, uma vez que o aumento dos níveis séricos podem ocorrer também em casos de lesão da musculatura esquelética (GODOY; BRAILE; NETO, 1998).

A **mioglobina** é uma proteína globular heme de baixo peso molecular que transporta oxigênio e está presente nos músculos esquelético e cardíaco, e por isso a sua quantidade é abundante em todas as fibras musculares, incluindo musculatura lisa, esquelética e cardíaca. Desta maneira, caso ocorra algum dano muscular ou, mesmo, insuficiência renal crônica, os níveis de mioglobina no soro podem estar aumentados. Com isso devido à sua inespecificidade cardíaca, o diagnóstico diferencial torna-se um problema (KENT, 1982).

A **proteína ligada a ácidos graxos (H-FABP)**, que compreende 15 a 30% de todas as proteínas citoplasmáticas, se assemelha a mioglobina no que diz respeito às variações de concentração sérica, todavia, tem especificidade levemente maior. A **glicogeno-fosforilase** é uma proteína cistosólica com grande cárdio-especificidade, entretanto a experiência clínica com esses marcadores ainda é limitada (GODOY; BRAILE; NETO, 1998).

Os **Peptídeos Natriuréticos (BNP e ANP)** e fração amino terminal do proBNP (NT-proBNP) são considerados biomarcadores padrão na insuficiência cardíaca (IC) descompensada em humanos, bem como em outras patologias (síndrome isquêmica aguda, insuficiência renal, fibrilação atrial, doença pulmonar obstrutiva crônica, embolia pulmonar, idosos). Esses biomarcadores difundiram-se na medicina felina para diferenciação de dispnéia de origem cardiogênica (WURTINGER et al., 2017). Os peptídeos natriuréticos são neurohormônios que causam aumento da excreção de sódio e água, vasodilatação por inibição da endotelina I e renina, e modulação do sistema nervoso simpáti-

co. Os mais conhecidos são o ANP (atrial natriuretic peptide) e o BNP (brain natriuretic peptide). O ANP é sintetizado e armazenado no átrio, e liberado quando há sobrecarga de volume atrial causando estresse na parede. O BNP por sua vez é sintetizado como proBNP no átrio, quando há estresse na parede miocárdica ou estímulo neuro-hormonal (endotelina I ou angiotensina II) há aumento da sua produção e ele é clivado por proteases em sua forma ativa (BNP) e sua forma inativa (NT-proBNP) que tem meia vida plasmática mais longa e em maiores concentrações (PEMBERTON et al., 2000; VAN KIMMENADE & JANUZZI, 2009; CÔTÉ, 2011).

Dentre outros marcadores plasmáticos de lesão ao miocárdio podemos citar os plasmáticos **C5b-9** (ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a; CAMPOBASSO et al., 2008), **C4d** (CHANTRANUWAT et al., 2004; JENKINS et al., 2010), **C9** (DORAN et al., 1996; SILVA et al. 2002; JENKINS et al., 2010) e **fibronectina** (HU; CHEN; ZHU, 1996; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000b; SILVA et al. 2002; CAMPOBASSO et al., 2008). Lagrand et al. (1997) sugeriram que a proteína C-reativa poderia ativar o sistema complemento em humanos com infarto agudo do miocárdio. C4d e C5b-9 são alguns dos produtos desta ativação do complemento (YASOJIMA et al., 1998).

2.4.1 Troponina

Troponinas são proteínas presentes nas musculaturas esquelética e cardíaca com 3 subunidades, troponina I (cTnI), troponina C (cTnC) e troponina T (cTnT), que formam um complexo que regula a interação cálcio-dependente da miosina com a actina. Os genes codificadores da troponina C são idênticos nos músculos cardíaco e esquelético, porém os que codificam as troponinas T e I são diferentes, por isso tem recebido crescente atenção como marcadores altamente específicos de injúria celular cardíaca (GODOY; BRAILE; NETO, 1998).

A troponina T se liga a um complexo de três proteínas com a tropomiosina, a troponina I inibe o engate da actina com a miosina e a troponina C se liga ao cálcio induzindo a uma mudança e invertendo a atividade inibitória da troponina I (ADAMS; ABENDSCHEIN; JAFFE, 1993). Assim como a tropomiosina está envolvida na contratilidade como proteína moduladora, pois quem realmente exerce atividade contrátil são a actina e a miosina (AIRES et al., 2008).

2.4.2 Troponina I

A troponina I (cTnI) atualmente é descrita como mais sensível e específico marcador de lesão cardíaca em humanos. A troponina I cardíaca não se expressa no músculo esquelético durante o desenvolvimento fetal, após trauma muscular ou durante a regeneração desse tipo de músculo. Ao contrário da CK-MB, não é detectável no sangue de pessoas saudáveis, mostra um aumento proporcionalmente bem maior acima dos valores limite (pico até mais de 40 vezes o limite da detecção), enquanto CK-MB restringe a 6 a 9 vezes (GODOY; BRAILE; NETO, 1998). Por volta de 4 a 6 horas após lesão ou necrose aguda do miocárdio há um aumento das concentrações séricas de cTnI e cTnT (NELSON; COUTO, 2006; JENKINS et al., 2010). Estudos em humanos demonstram que nos casos de infarto do miocárdio podem permanecer elevada por uma média de 7 a 10 dias após o episódio agudo (ANTMAN et al., 1996; FONAROW, 1996; SLEEPER et al., 2001). Devido ao seu tempo prolongado de liberação permitem a confirmação do diagnóstico em até três semanas após o início dos sintomas (GODOY; BRAILE; NETO, 1998). A especificidade da troponina I mostrou-se maior do que os outros marcadores, incluindo a troponina T, em casos de doença renal crônica, doenças musculares esqueléticas e traumas musculares. A troponina I não foi detectada nos casos de traumas musculares graves ou rabdomiólise, o que resulta em 100% de especificidade (GODOY; BRAILE; NETO, 1998). Em humanos a correlação dos níveis elevados de cTnI com doença não cardíaca, se correlacionam com a piora no prognóstico, independentemente do processo subjacente da doença primária (WOOD et al., 2003; AMMANN et al., 2009).

Como são proteínas exclusivamente intracelulares de células cardíacas, a presença na circulação sanguínea significa lesão em cardiomiócitos, para os quais tornaram-se biomarcadores padrão ouro para estas injúrias. Embora muito seja conhecido sobre troponinas no que diz respeito à sua função, estrutura e liberação de cardiomiócitos lesionados, processo de eliminação do organismo ainda não foi esclarecido (LANGHORN et al., 2016).

Na medicina veterinária, o aumento da concentração da troponina I sérica, tem sido associado a muitas doenças cardíacas clinicamente relevantes para espécie canina, felina, e em equinos com ruptura ventricular esquerda (SLEEPER et al., 2001).

A correlação de muitas doenças sem envolvimento cardíaco *ante-mortem* com o aumento de níveis séricos de cTnI, limita o uso desta como auxílio no diagnóstico e identificação de doença cardíaca primária, caso outra doença substancial esteja presente. Entretanto tem alta aplicação em seu uso como biomarcador clínico altamente

específico de lesão ou dano miocárdico, que pode ou não estar relacionado a distúrbios cardíacos primários. Para a espécie canina, os valores de referência normais para cTnI sérica variam de 0.03 a 0.07ng/mL, enquanto que para a espécie felina varia de < 0,16 ng/ml. (PORCIELLO et al., 2008).

2.4.3 Troponina I sérica em gatos e cães com DRC

Em humanos as troponinas cardíacas estão elevadas em alguns pacientes com insuficiência renal, mesmo na ausência de isquemia clinicamente suspeita (MCLAURIN et al., 1997; ESCALON et al., 1996). Nesses pacientes diagnosticados com insuficiência renal crônica, as doenças cardiovasculares representam cerca de 50% dos óbitos. Várias condições não cardíacas em pessoas, que inclui além da insuficiência renal grave, a diabetes e doença crítica inespecífica podem causar elevações de cTnI, embora o mecanismo exato pelo qual ocorre é controverso (ATABEK et al., 2004).

Em um estudo retrospectivo de Porciello e colaboradores (2008), foi demonstrado que cães e gatos com insuficiência renal geralmente apresentam níveis elevados de cTnI. Além disso, há similarmente cTnI elevada tanto em cães com insuficiência renal e doença sistêmica não renal grave. Em 78% dos cães e 72% dos gatos com insuficiência renal apresentaram níveis de cTnI elevados. Em caninos e felinos com insuficiência renal e sem quadro clínico aparente de doença cardíaca primária, os níveis de cTnI geralmente estão aumentados, entretanto, a clínica, a relevância e a causa desse aumento permanecem indeterminadas (PORCIELLO et al., 2008).

Apesar da troponina ser eliminada pelo sistema renal, a gravidade da insuficiência deste órgão não se correlaciona com a concentração de cTnI sérica (PORCIELLO et al., 2008), semelhante aos achados em pacientes humanos com insuficiência renal (DE ZOYSA et al., 2004; LAMB et al., 2004).

Porciello e colaboradores (2008), descrevem em seu estudo que cães e gatos com insuficiência renal e hipertensão não apresentaram maior probabilidade de ter concentrações aumentadas de cTnI do que pacientes normotensas, onde foram observados números semelhantes de pacientes hipertensos e normotensos que apresentaram níveis normais de cTnI e elevados de cTnI.

Um estudo de Nelson e Couto (2006), defende que em cães uma disfunção do miocárdio em doenças sistêmicas graves apoia a observação que a lesão miocárdica histologicamente aparente não é necessária para produzir disfunção miocárdica detectável ecocardiograficamente e, potencialmente, elevações da cTnI sérica. Na espécie felina

estudos não documentaram disfunção cardíaca esquerda marcada em paciente com insuficiência renal, o que sugere que gatos com insuficiência renal crônica não complicada, não se têm consistentemente evidência de doença cardíaca estrutural (RISHNIW et al., 2002).

Entretanto como a troponina cardíaca só pode aumentar secundária a lesão ou dano miocárdico, outros estudos fornecem um correlato antemortem que identificaram doenças miocárdicas clinicamente e necrose em muitos pacientes com doença não cardíaca e sugere que a incidência de lesão miocárdica (necrótica ou não necrótica) em pacientes com doença sistêmica pode ser consideravelmente maior do que se pensava anteriormente (DRIEHUYS et al., 1998; KIDD et al., 2000; PORCIELLO et al., 2008). O estudo de Langhorn e colaboradores (2018) documentou o aumento da concentração sérica de cTnI em gatos com função renal comprometida e sem evidências de lesão cardíaca estrutural o que confirma seu possível indicador prognóstico em gatos com DRC, independentemente do mecanismo subjacente.

Com base nos resultados de Langhorn e colaboradores (2018), é considerado altamente provável que o aumento da cTnI sérica em pacientes felinos com comprometimento função renal reflita lesão miocárdica, ou pelo menos parcialmente, onde a lesão miocárdica é induzida por lesões de uma doença não cardíaca. Na co-dependência do sistema cardio-renal, sua interação envolve mecanismos compartilhados que são relacionados ao volume e pressão arterial (RONCO et al., 2014; KELLER et al., 2016). As causas para a remodelação cardíaca pela DRC incluiria a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, sistema nervoso simpático após um declínio da TFG, os quais induzem doenças cardíacas e fibrose, além de toxinas urêmicas, bem como hiperfosfatemia e anemia não regenerativa, são hipóteses levantadas (LANGHORN et al., 2018).

2.4.4 Causas de troponinemia em gatos

O significado da lesão do miocárdio na doença cardíaca e doenças não cardíacas ficaram em evidência nos últimos anos (LANGHORN et al., 2016; MARKOU et al., 2011). Tendo como procedimento padrão avaliar biomarcadores hepáticos e renais como parte da investigação clínica do paciente e a análise do coração através de diagnóstico por imagem e eletrocardiograma (ECG), atualmente os biomarcadores cardíacos estão ganhando maior visibilidade na medicina veterinária e sua interpretação correta é essencial (LANGHORN et al., 2018).

Estudos demonstram originalmente que cães e gatos com doença renal frequentemente têm cTnI sérico aumentado, entretanto, esse aumento pode ser acarretado por diversas causas possíveis, dentre elas doenças cardíacas, caso em que cTnI pode refletir com segurança lesão primária do miocárdio; toxinas urêmicas e hemodinâmica alterada podem causar lesão miocárdica secundária, ou seja, lesão miocárdica induzida por doença não cardíaca, como observada com doença sistêmica grave (MARKOU et al., 2011; LANGHORN et al., 2013); co-dependência do coração e dos rins um no outro, descrito como síndrome cardiorenal (RONCO et al., 2014).

2.5 Imunohistoquímica com anticorpo antitroponina

Em Medicina Veterinária, são escassos os trabalhos que relatam o uso da imunohistoquímica com anticorpo antitroponina na detecção de lesões cardíacas. Carretón e colaboradores (2012) avaliaram o coração de 24 cães que apresentaram resultado positivo para antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis*; 13 desses com elevados níveis plasmáticos de troponina I e cinco com elevados níveis plasmáticos de mioglobina. Macroscopicamente, nenhum coração apresentou lesão, porém microscopicamente houve necrose focal no ventrículo direito e, em outras áreas, focos hipereosinofílicos e necróticos eram frequentemente observados e, ocasionalmente, inflamação neutrofílica. Na avaliação imunohistoquímica, houve perda não uniforme de mioglobina e cTnI nos cardiomiócitos necróticos, ou seja, algumas fibras demonstraram completa ausência desse componente e outras apresentaram variados graus de perda.

Recentemente, foram avaliadas as lesões cardíacas secundárias à doença renal em cães por meio da técnica de imunohistoquímica com anticorpo antitroponina C humano. No coração de 22 caninos observaram-se diversos grupos de miócitos com diminuição significativa ou ausência de imunorreatividade para o anticorpo antitroponina C, essas áreas, via de regra, correspondiam aos mesmos grupos de miócitos na coloração de Hematoxilina e Eosina (H.E). que apresentavam alterações que variavam de leve tumefação celular a aumento da eosinofilia, perda de estriação, lise celular e cariólise, por vezes, acompanhadas de infiltrado inflamatório misto. Adicionalmente, havia, no coração de 10 cães, lesão vascular, que variou de leve tumefação das células endoteliais a necrose destas, com deposição de material eosinofílico na parede vascular e mineralização (D'ÁVILA, 2016).

Em um estudo com bovinos intoxicados naturalmente por *Amorimia exotropica*, todos os cardiomiócitos com características histológicas (discretas a severas) de dano

celular, apresentaram diminuição ou ausência de marcação pelo anticorpo anti-troponina C (PAVARINI et al., 2012; BANDINELLI et al., 2014). Esse anticorpo também apresentou bons resultados em estudos com ovinos intoxicados por *Amaranthus spinosus*. As fibras cardíacas hipereosinofílicas ou necróticas exibiram diminuição ou perda da imuno-marcação (COSTA et al., 2014).

3. METODOLOGIA GERAL

Declaração ética. Os animais foram incluídos no estudo somente após o consentimento prévio dos proprietários para realização do exame clínico, colheita de material e necropsia. Estes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso Animal (CEUA), da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), sob o número do processo 7430260817 (em anexo).

Coleta de material. A coleta de dados foi realizada no Setor de Clínica Médica de felinos do Hospital Veterinário de Pequenos Animais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (HVPA-UFRRJ), no município de Seropédica, RJ. Os exames de histopatologia e imunohistoquímica foram realizados nos Laboratórios de Histopatologia e Imunohistoquímica do Setor de Anatomia Patológica (SAP) do Anexo I do Instituto de Veterinária da UFRRJ. Os exames laboratoriais (hemograma, bioquímica e Troponina I sérica) foram realizados em laboratório particular.

Seleção dos animais e amostras de tecido. Neste estudo, foram selecionados, 20 felinos (*Felis catus*), doze fêmeas e oito machos, 18 diagnosticados com DRC, independentemente de raça, sexo, idade e dois animais controle. Foram realizadas necropsias nos 20 animais que vieram a óbito e fragmentos de todos os órgãos avaliados macroscopicamente, colhidos e processados para histopatologia.

Critérios de inclusão e exclusão de gatos com doença renal crônica. Como critério de inclusão, os pacientes apresentaram exame de perfil bioquímico que demonstraram estado azotêmico estável, ou seja, encontravam-se no estágio II ou superior da IRIS (concentrações de creatinina sérica maiores do que 1,6mg/dL) (IRIS, 2019), e ainda registro dos sinais clínicos pertinentes. Todos os dados clínicos dos animais foram descritos na ficha clínica elaborada para este estudo. Foram excluídos do estudo animais que apresentavam doenças cardíacas primárias ou outras condições que pudessem levar ao aumento da troponina sérica, tais como cardiomiopatia hipertrófica, hipertireoidismo, neoplasia cardíaca primária ou metastática.

Avaliação clínica. Foi realizada uma análise retrospectiva do histórico clínico-laboratorial do paciente por meio do prontuário médico ou de relatos do próprio tutor, para coletas dos seguintes dados: tempo de evolução da doença, manifestações clínicas, resultados de exames de sangue (ureia, creatinina, cálcio e fósforo) e de imagem (ultrassonografia abdominal), seguida de posterior associação aos resultados

encontrados na análise das amostras de tecido. Os animais foram submetidos à avaliação clínica geral que consistiu em anamnese e exame físico, incluindo parâmetros vitais sistemáticos com uso de métodos de exploração clínica (inspeção, palpação, percussão e auscultação). Foram incluídos nesse estudo, pacientes que apresentaram sintomatologia clínica tais como perda de apetite, apatia, emagrecimento progressivo, hálito urêmico, desidratação, episódios de vômito, sintomas estes que variável em cada animal, e resultados dos exames laboratoriais compatíveis com doença renal.

Exames laboratoriais. Foram utilizados os dados contidos nas fichas individuais dos exames laboratoriais de bioquímica, hemograma e troponina sérica. Para a realização da dosagem de cTnI e T4 livre, o material colhido foi encaminhado pelo clínico responsável em tubos contendo heparina de sódio. O plasma foi separado e armazenado em *ependorf* de 1 mL a em tubos sem anticoagulante, padrão para bioquímica. Em seguida, o material foi armazenado a 4°C por um período máximo de oito semanas e encaminhado para um laboratório localizado na cidade de Petrópolis, RJ, onde foi analisado pelo método de quimioluminescência.

Exame macroscópico. Foi realizado o exame macroscópico nos 20 animais que vieram a óbito durante o estudo. Durante a necropsia todos os órgãos foram avaliados de forma detalhada e as alterações foram registradas em fichas individuais utilizadas para este estudo. Os rins direito e esquerdo foram analisados e coletados separadamente.

Mapeamento macroscópico do coração. Os corações de todos os animais foram separados do sistema respiratório e colhidos inteiros para avaliação macroscópica, segundo a técnica descrita por Bandinelli et al. (2014), nos quais foram seccionados transversalmente, em um total de quatro secções completas equidistantes entre si. De cada coração foram colhidos separadamente, oito fragmentos de regiões distintas em frascos previamente identificados e fixados em solução de formalina a 10% tamponada por 24h. Foram coletadas as regiões do ápice, septo interventricular, ventrículo esquerdo, ventrículo direito, músculo papilar esquerdo, músculo papilar direito, átrio esquerdo e átrio direito. Foram utilizados como controles fragmentos de coração de um felino sem lesões miocárdicas.

Exame histopatológico. Para o exame histopatológico, cada amostra após fixada foi processada rotineiramente para histologia. Os fragmentos foram desidratados em quatro banhos utilizando álcool etílico P.A. (dois minutos em cada), diafanizados em dois banhos de xilol (quinze minutos em cada), incluída em blocos de parafina (aproximadamente 60°C) e cortada a 3µ de espessura. Os cortes foram corados pela hematoxilina e eosina (HE) e as lâminas examinadas em microscópio óptico.

Exame imuno-histoquímico. Para realização da técnica de imunohistoquímica anti-troponina C humana, foram obtidas lâminas silanizadas com cortes seriados das oito regiões do coração. Para controle negativo, foi utilizado fragmento de coração de um gato sem alterações clínico-patológicas de cardiopatia. Na utilização do controle positivo, foi empregado fragmento de coração de animal diagnosticado com cardiomiopatia hipertrófica. As secções histológicas do coração foram desparafinadas em dois banhos de xilol (20 minutos em cada), hidratadas em quatro banhos de álcool (cinco minutos em cada), e incubadas por 15 minutos em peróxido de hidrogênio a 3% diluído na hora. Em seguida, permaneceram por mais 15 minutos na mesma solução porém diluída após o término dos primeiros 15 minutos para bloqueio de peroxidases endógenas. Após a lavagem das lâminas com água destilada, estas ficaram em banho maria com tampão citrato (pH 6,0) em temperatura aproximada de 98°C por 15 minutos para recuperação antigênica. O bloqueio de reações inespecíficas foi realizado com leite desnatado a 5 % (Molico® - Indústria Brasileira) por 30 minutos. Os cortes foram incubados “*overnight*” com o anticorpo anti-troponina C humana (Novocastra® - monoclonal) na diluição 1:100 (1µl de anticorpo para 100µl de PBS ou de diluente ADS-125 Antibody Diluent). Utilizou-se o sistema de detecção REVEAL polímero-HRP, livre de biotina (*Spring*) e como cromógeno a Diaminobenzidina (DAB). Todas as seções foram contraincoradas com hematoxilina de Harris e avaliadas em microscópio ótico (Nikon – Eclipse E200) e fotografadas (Moticam 2500, 5.0 M pixel).

Metodologia estatística. Realizou-se um estudo observacional descritivo, composto por 19 pacientes portadores de DRC e um animal controle. Foram registrados: idade, sexo, raça, pelagem, estágio IRIS, creatinina, ureia, hematócrito, leucograma e troponina. A creatinina e ureia foram mensuradas em até cinco momentos diferentes e o maior valor observado para cada felino foi denominado de creatinina máxima e ureia máxima, respectivamente. Na análise imunohistoquímica foram observadas diminuição da expressão para anticorpo-cTnC e contabilizados os números de regiões afetadas por felino. Foi realizada análise descritiva da distribuição de frequência das variáveis categóricas e da média e desvio-padrão da idade. Para a análise de correlação entre as variáveis de exames laboratoriais e o número de regiões com diminuição da expressão para anticorpo-cTnC utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman, que mede o grau de associação das variáveis. Como classificação do grau de correlação, ou seja, da força entre as variáveis, utilizou-se o seguinte parâmetro¹: fraco quando $0 < r < 0,4$; moderado quando $0,4 < r < 0,7$ e forte quando $0,7 < r < 1,0$. Foram correlacionadas as variáveis com grau de correlação forte ($r > 0,4$) e o respectivo nível de significância.

O teste exato de Fisher foi utilizado para avaliar se a troponina é independente dos estádios IRIS. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* R 3.6.1² e foi adotado o nível de significância de 5%.

Os resultados e a conclusão desta tese serão apresentados na forma de capítulo, de forma que este corresponda a um artigo científico. O capítulo foi confeccionado nos moldes do periódico: Journal of Feline Medicine and Surgery (ISSN:1098612X).

CAPÍTULO ÚNICO

AVALIAÇÕES CLÍNICO-PATOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA DE LESÕES CARDÍACAS EM GATOS COM DOENÇA RENAL CRÔNICA

Gabriela C. Cid¹, Mariana P.B. Jardim², Amanda C. Jesus³, Samay Z.R.Costa⁴,
Ilka N. Gonçalves³, Tiago C. Peixoto⁵, Heloisa J.M. Souza⁶, Vivian A. Nogueira⁷

Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública (DESP), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Rodovia BR 465, Km 07, s/n - Zona Rural, Seropédica - RJ, 23890-000, Brazil. *Corresponding author: gabrieladecarvalhocid@gmail.com

²Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária (DMCV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

³Médica Veterinária autônoma

⁴Laboratório de Ensino Pesquisa Extensão e Produção (LEPEP) Patologia Veterinária do Instituto Federal Farroupilha Campus Frederico Westphalen

⁵Departamento de Anatomia, Patologia e Clínicas Veterinárias da Universidade Federal da Bahia (UFBA)

⁶Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária (DMCV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

⁷ Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública (DESP), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Palavras-chave: Troponina, Biomarcador, Cardiologia, Nefrologia

RESUMO

Objetivo A doença renal crônica é caracterizada por lesões morfoestruturais irreversíveis, que podem evoluir progressivamente para insuficiência renal crônica e falência renal. Sabe-se que, o coração e os rins mantêm estreita relação e a comunicação entre esses órgãos ocorre por uma variedade de vias; alterações fisiológicas sutis em um desses órgãos são compensadas pelo outro. As colorações rotineiras são limitadas para identificar lesões específicas ou discretas em cardiomiócitos em avaliações. O presente trabalho teve como objetivos avaliar os níveis séricos de troponina em gatos com DRC, associados aos achados clínico-patológicos, bem como correlacionar as lesões cardíacas morfoestruturais, a fim de determinar a distribuição destas, por meio da avaliação macroscópica, histológica e imunohistoquímica com anti-cTnI.

Métodos Neste estudo foram selecionados, 18 animais da espécie felina diagnosticados com doença renal crônica. Foram realizadas necropsias e, de cada coração foram coletadas separadamente oito regiões para realização da técnica de imunohistoquímica anti-troponina C humana. Fragmentos do coração de um animal saudável foram utilizados como controle.

Resultados No exame de troponina sérica foram encontrados dados acima dos valores de referência em 11 animais (55%). Foram observadas diminuição da expressão para anticorpo-cTnC em cardiomiócitos individuais em nove felinos (45%). Notou-se que o número de regiões com diminuição da expressão para anticorpo-cTnC em cardiomiócitos está significativamente correlacionado com a Troponina sérica.

Conclusão e relevância O anticorpo anti-TnC humano se mostrou eficaz para detectar lesões cardíacas e demonstrou diminuição da expressão nos cardiomiócitos de gatos com doença renal crônica. Houve correlação entre o aumento da cTnI sérica e perda da imunorretividade na avaliação imunohistoquímica com anticorpo anti-TnC em felinos com doença renal crônica o que comprova danos em cardiomiócitos secundários a doença renal.

INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada por lesões morfoestruturais irreversíveis, que podem evoluir progressivamente para insuficiência renal crônica (IRC) e falência renal (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005). A insuficiência renal leva à ruptura de funções metabólicas e endócrinas, bem como a distúrbios hidroeletrolítico e ácido básico (RIBEIRO et al., 2008), além de alterações na função cardíaca (MARTIN; FRANCO, 2005).

Sabe-se que, o coração e os rins mantêm estreita relação e a comunicação entre esses órgãos ocorre por uma variedade de vias; alterações fisiológicas sutis em um desses órgãos são compensadas pelo outro (VISWANATHAN; GILBERT, 2011). As alterações cardíacas em seres humanos portadores de insuficiência renal crônica foram descritas pela primeira vez em 1947. Macroscopicamente, havia acentuada hipertrofia ventricular e fibrose e, ao exame histológico do miocárdio, observou-se edema intersticial intenso. Nesse estudo, sugeriu-se que a causa da morte havia sido a uremia, tendo em vista que a diálise clínica rotineira não era disponível na época (LANGENDORF; PIRANI, 1947). As cardiopatias, quando associadas às nefropatias, podem ter evolução mais rápida e de difícil controle. A DRC pode provocar anemia, descontrole dos níveis de colesterol e triglicerídeos e dificultar o controle da pressão arterial. Em humanos acelera o processo de aterosclerose, com posterior calcificação e formação de placas ateromatosas nas artérias cerebrais e coronarianas, o que pode ocasionar infarto do miocárdio (RONCO; HOUSE; HAAPIO, 2008b).

As colorações rotineiras são limitadas para identificar lesões específicas ou discretas em cardiomiócitos (STIGGER et al., 2001; CARMO et al., 2011). Diversas técnicas imunohistoquímicas com alta especificidade e sensibilidade têm sido desenvolvidas no intuito de se detectar danos aos cardiomiócitos. Entre essas, a troponina cardíaca tem apresentado bons resultados em bovinos (ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a; PAVARINI et al., 2012; BANDINELLI et al., 2014; SANTOS et al., 2014), ovinos (COSTA et al., 2014) e em cães (D'ÁVILA, 2016). Os cardiomiócitos necróticos, detectáveis ou não pelos exames rotineiros de microscopia óptica, apresentam imunomarcagem negativa, enquanto os não-afetados são positivos para a troponina (JENKINS et al., 2010; BANDINELLI et al., 2014; COSTA et al., 2014; SANTOS et al., 2014; D'ÁVILA, 2016).

Até o momento, não há estudos que avaliem a imunohistoquímica com anti-cTnI na detecção de lesões cardíacas em gatos domésticos. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivos avaliar os níveis séricos de troponina em gatos com DRC,

associados aos achados clínico-patológicos, bem como correlacionar as lesões cardíacas morfoestruturais, a fim de determinar a distribuição destas, por meio da avaliação macroscópica, histológica e imunohistoquímica com anti-cTnI.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso Animal (CEUA), da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), sob o número do processo 7430260817 .

A coleta de dados foi realizada no Setor de Clínica Médica de Felinos do Hospital Veterinário de Pequenos Animais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (HVPA-UFRRJ), bem como os exames de necropsia, histopatologia. O exame de imuno-histoquímica de todos os animais foi realizado no Laboratório de Histopatologia e Imuno-histoquímica do Setor de Anatomia Patológica (SAP) do Anexo I do Instituto de Veterinária da UFRRJ. Os exames laboratoriais (hemograma, bioquímica e Troponina I) foram realizados nos laboratórios de patologia de clínicas particulares.

Neste estudo, foram selecionados, 20 gatos (*Felis catus*), 12 fêmeas e 8 machos, 18 diagnosticados com DRC, independentemente de raça, sexo, idade e 2 animais controle. As necropsias foram realizadas e fragmentos de todos os órgãos foram avaliados macroscopicamente, coletados e processados para histopatologia.

Como critério de inclusão, os gatos apresentaram exame de perfil bioquímico que demonstraram estado azotêmico, ou seja, encontravam-se no estágio II ou superior da International Renal Interest Society (IRIS), ou seja, concentrações de creatinina sérica maiores do que 1,6mg/dL (IRIS, 2019) e ainda registro dos sinais clínicos e exames complementares condizentes com o diagnóstico de DRC. Foram excluídos do estudo animais que apresentavam doenças cardíacas primárias ou outras condições que pudessem elevar a troponina sérica, tais como cardiomiopatia hipertrófica, hipertireoidismo, neoplasia cardíaca primária ou metastática. Esta exclusão foi baseada em avaliação clínica minuciosa, bem como auxílio de exames de imagem e laboratoriais, para o diagnóstico de DRC. Foi realizada análise histológica da glândula tireoide em todos os 20 animais, e observou-se morfologia usual, sem evidências de hiperplasia ou quaisquer outras alterações. O exame de pressão arterial foi realizado em 12 dos 18 gatos portadores de DRC.

Os exames laboratoriais de bioquímica, hemograma e troponina sérica foram realizados em todos os gatos deste estudo. Para cada gato foram realizadas coletas de

sangue para a realização de exames de hemograma e bioquímica em todas as consultas dentro do período de coleta de amostras deste estudo até seu óbito. A coleta para a dosagem da troponina sérica foi realizada nos animais que apresentaram resultados que enquadravam o gato nos estádios II, III ou IV da DRC.

Durante este estudo, 18 gatos com DRC e 2 animais controles foram necropsiados e, ao exame macroscópico, diversos órgãos foram avaliados de forma detalhada e os dados registrados em fichas elaboradas para esta pesquisa. À necropsia, os corações foram coletados inteiros para avaliação macroscópica, segundo a técnica descrita por Bandinelli et al. (2014). Em seguida foram seccionados transversalmente, em um total de quatro secções completas equidistantes entre si. De cada coração foram coletados separadamente, 8 fragmentos de regiões distintas em frascos previamente identificados contendo solução de formalina a 10% tamponada. Foram coletadas as regiões do ápice, septo interventricular, ventrículo esquerdo, ventrículo direito, músculo papilar esquerdo, músculo papilar direito, átrio esquerdo e átrio direito. Foram utilizados como controle fragmentos de coração de 2 gatos sem lesões renal e cardíaca. Para o exame histopatológico, cada amostra foi fixada e processada rotineiramente para histologia, os cortes foram corados pela hematoxilina e eosina (HE) e as lâminas examinadas em microscópio óptico.

Para realização da técnica de imuno-histoquímica anti-troponina C humana, foram obtidas lâminas silanizadas com cortes seriados das 8 regiões do coração. As secções histológicas do coração foram desparafinadas em 2 banhos de xilol (20 minutos em cada), hidratadas em quatro banhos de álcool (5 minutos em cada), e incubadas por 15 minutos em peróxido de hidrogênio a 3% diluído na hora. Em seguida, permaneceram por mais 15 minutos na mesma solução, porém diluída após o término dos primeiros 15 minutos para bloqueio de peroxidases endógenas. Após a lavagem das lâminas com água destilada, estas ficaram em banho maria com tampão citrato (pH 6,0) em temperatura aproximada de 98°C por 15 minutos para recuperação antigênica. O bloqueio de reações inespecíficas foi realizado com leite desnatado a 5 % (Molico® - Indústria Brasileira) por 30 minutos. Os cortes foram incubados “*overnight*” com o anticorpo anti-troponina C humana (Novocastra® clone 1A2) na diluição 1:100 (1µl de anticorpo para 100µl de PBS ou de diluente ADS-125 Antibody Diluent). Utilizou-se o sistema de detecção REVEAL polímero-HRP, livre de biotina (*Spring*) e como cromógeno a Diaminobenzidina (DAB). Todas as seções foram contracoradas com hematoxilina de Harris e avaliadas em microscópio óptico.

Para mensurar a relação entre as variáveis laboratoriais e o número de regiões com diminuição da expressão para anticorpo-cTnC em cardiomiócitos individuais foram calculados coeficientes de correlação de Spearman. O teste exato de Fisher foi utilizado para avaliar se a troponina é independente dos estádios IRIS. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* R 3.6.1² e foi adotado o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Obteve-se um total de 20 felinos incluídos em nosso estudo (18 diagnosticados com DRC e dois controles (número 20), entre o período de março de 2016 a novembro de 2018. Destes 20 gatos analisados, 11 (55%) eram fêmeas e 9 (45%) eram machos, com idades variando entre 3 a 23 anos e média de 10,3 (5,9) anos. Foi mensurado o peso de 13 (65%) gatos, cujo peso médio resultou em 3,4 kg (0,9 kg), peso mínimo de 1,7 kg e máximo de 4,8 kg, utilizou-se a escore corporal com escala de 1 a 5 (1- caquético; 2- abaixo do peso; 3- ideal; 4- sobrepeso; 5- obeso). No que diz respeito à pelagem e raça, foram observados padrões variados e a maioria dos gatos era SRD (75%), dois eram Persas (10%), um Maine Coon (5%), um Sagrado da Birmânia (5%) e um Siamês (5%).

Na **análise de creatinina e ureia** foram encontrados parâmetros acima dos valores de referência nos 18 animais com DRC. No exame de troponina sérica foram encontrados dados acima dos valores de referência em 11 animais (55%). O maior valor referente aos exames de creatinina e ureia, bem como os valores de troponina sérica, a classificação dos animais de acordo com a IRIS e presença ou não da visualização de lesão cardíaca em HE e perda de troponina na IHQ estão expostos no Quadro 1.

Quadro 1: Classificação da IRIS e exames laboratoriais

Gato	IRIS Estádio	Creatinina 0,5 – 1,6 mg/dL (referência)	Ureia 42,8 – 54,2 mg/dL (referência)	Troponina 0,03 a 0,16ng/L (referência)	Lesão cardíaca presente (HE)	Perda de troponina (IHQ)
1	II	2,0	53,0	0,03	Não	Não
2	III	2,91	72,7	0,09	Sim	Sim
3	IV	13,0	130,0	0,673	Não	Não
4	IV	6,81	308,2	39,497	Sim	Sim
5	IV	6,6	152	0,11	Não	Não
6	IV	11,3	430,6	0,120	Não	Não
7	II	1,65	73,0	0,11	Não	Não
(Controle)						
8	II	2,2	188,5	1,558	Sim	Sim

9	IV	6,33	206,1	0,448	Sim	Sim
10	IV	6,8	226	0,990	Sim	Sim
11	IV	8,8	241	0,085	Não	Não
12	IV	8,2	325	0,023	Não	Não
13	IV	17,0	276,0	0,166	Sim	Não
14	II	2,8	-	9,332	Sim	Não
15	IV	8,40	226	1,237	Sim	Sim
16	IV	9,4	276	51,019	Sim	Sim
17	IV	8,0	200,0	0,046	Não	Não
18	IV	10,9	309	0,206	Sim	Sim
19	II	2,8	47	0,131	Não	Não
20 (Controle)	-	-	-	-	Não	Não

Avaliações clínica, macroscópica, microscópica e imunohistoquímica.

Clinicamente observou-se 14/18 animais com redução do apetite (77,7%), 16/18 com emagrecimento (88,8%) e 6/18 com episódios de vômito (33,33%). Em todos os gatos em que a pressão arterial foi aferida (12/18), os valores encontravam-se dentro dos parâmetros normais, que variavam de 120 a 140 mmHg.

Na análise macroscópica, obtiveram-se como principais achados mucosas hipocoradas em 8/18 gatos (44,44%), rins diminuídos de tamanho em 13/18 (72,2%) e com superfície capsular irregular em 15/18 (83,3%). As lesões histológicas principais em rins incluíram infiltrado inflamatório predominantemente linfoplasmocitário difuso intersticial em região corticomedular em 18/18 gatos (100%), espessamento da cápsula de Bowman em 15/18 (83,3%), atrofia e esclerose glomerular em 16/18 (88,8%), mineralização em 9/18 (50%), degeneração vacuolar das células epiteliais túbulos contorcidos em 6/18 (33,3%) e fibrose insterticial em 5/18 animais (27,7%).

A análise histopatológica do coração revelou aumento da eosinofilia de cardiomiócitos 9/18 gatos (50%), onde 7 apresentaram em cardiomiócitos isolados (38,8%) (Fig. 3) e 2 em áreas extensas (11,11%) (Fig. 5); focos de fibrose em 3/18 (16,6%), mineralização de miócitos e íntima de vasos do coração também em 3/18 animais (16,6%) e depósito de substância eosinofílica amorfa com redução do lúmen vascular que caracteriza arterioesclerose em 1/18 gato (5,5%). Animais controle não apresentaram alterações dignas de nota (Fig. 1 e 2).

Foram excluídas causas que levassem ao aumento da cTnI sérica pela lesão de cardiomiócitos. Esta exclusão foi baseada em avaliação clínica minuciosa, bem como auxílio de exames de imagem e laboratoriais, para o diagnóstico de DRC. Foi realizada

análise histológica da glândula tireoide em todos os animais, e observou-se morfologia usual, sem evidências de hiperplasia ou quaisquer outras alterações.

O histórico, alterações clínicas, macroscópicas e microscópicas dos rins e demais órgãos estão destacados no Quadro 2.

Quadro 2: Histórico, sinais clínicos, macroscópicos e microscópicos

Gato	IRIS Estádio	Histórico e Sinais clínicos	Alterações macroscópicas	Histopatologia
1	II	Redução de apetite e perda de peso	<p>Escore corporal: 2</p> <p>Rins: ambos encontravam-se com a coloração esbranquiçada na região medular e a junção cortico medular apresentava-se avermelhada. O rim direito apresentava-se diminuído e com a superfície irregular</p> <p>Pulmão: lobo apical com enfisema ++</p> <p>Bexiga: no interior encontrou-se pequenos grânulos levemente amarronzados</p> <p>Duodeno/Jejuno/Íleo: mucosa apresentava-se edemaciada e superfície irregular +</p> <p>Presença de um exemplar de parasita compatível com <i>Dipylidium</i> spp. por um líquido translúcido.</p> <p>Sistema reprodutor feminino: cornos uterinos distendidos e preenchidos por muco ++ (mucometra)</p> <p>Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>	<p>Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário multifocal em região cortical (+); Atrofia e esclerose glomerular, espessamento da cápsula de Bowman</p> <p>Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>
2	III	Animal apresentou perda de peso progressivo, diminuição de apetite. Episódios de vômito e diarreia. Dificuldade de locomoção, andando em círculos tendendo para direita.	<p>Escore corporal: 2</p> <p>Rins: superfície irregular +++</p> <p>Mucosas: hipocoradas +++</p> <p>Fígado: superfície irregular ++; evidenciação do padrão lobular +; áreas multifocais avermelhadas e deprimidas em parênquima</p> <p>Baço: nódulos brancos, milimétricos multifocais (hiperplasia da polpa branca)</p> <p>Estômago: áreas de erosões e úlceras medindo aproximadamente 0,4 cm de diâmetro</p> <p>Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>	<p>Rim direito: degeneração vacuolar difusa dos túbulos contorcidos +++; focos aleatórios de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário desde a região cortical a pelve renal ++; vasos reativos com células endoteliais ativadas. Atrofia de alguns glomérulos e focos de necrose e mineralização em pelve (+)</p> <p>Rim esquerdo: focos de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário em córtex com focos de mineralização +++; atrofia glomerular e espessamento da cápsula de Bowman; degeneração vacuolar dos túbulos renais +++; focos de fibrose na cortical e necrose em pelve +</p> <p>Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>
3	IV	Animal com hiporexia, apatia há um mês com dificuldade de locomoção, mucosas hipocoradas, hipotermia (36,3°C), hálito urêmico, perda de peso, episódios de vômito, ingestão de água aumentada. Palpação renal dolorosa, rim direito diminuídos a palpação, e esquerdo com hipertrofia compensatória, com	<p>Escore corporal: 1</p> <p>Rins: diminuídos de tamanho; direito +; esquerdo +++; superfície irregular +</p> <p>Mucosas: hipocoradas ++</p> <p>Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>	<p>Rins: infiltrado inflamatório misto com predomínio de linfoplasmocitário e alguns neutrófilos difuso em córtex e medular +++; dilatação da luz dos túbulos renais, atrofia e esclerose glomerular</p> <p>Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>

		superfície irregular e dor abdominal		
4	IV	Apático, emagrecimento, normocorado, não se alimenta e não bebe água Hipotermia (35,0°C).	Escore corporal: 1 Rins: diminuídos; direito +++; esquerdo ++; superfície irregular ++; proporção da região córtico-medular 1:4 em direito Demais órgãos sem alterações dignas de nota	Rins: Degeneração vacuolar difusa em túbulos renais +++; presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso do córtex a medular ++; Focos de mineralização (+); espessamento da membrana da cápsula de Bowman e atrofia e esclerose glomerular. Áreas de necrose em região medular +. Colônia bacteriana em pelve + Demais órgãos sem alterações dignas de nota
5	IV	Animal apresentou prostração, apetite reduzido	Escore corporal: 2 Rim direito: diminuído +++, medindo 1,3 x 1,9 cm, de consistência firme e rangendo ao corte, correspondendo à acentuada área de mineralização e superfície externa irregular. Rim esquerdo: diminuído +, medindo 3,0 x 3,2 cm. Área de depressão em superfície externa e regiões esbranquiçadas Demais órgãos sem alterações dignas de nota	Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso e moderado em região cortical. Focos de fibrose discreta e aleatória em região cortical. Espessamento da membrana da cápsula de Bowman. Atrofia e esclerose glomerular Demais órgãos sem alterações dignas de nota
6	IV	Animal apresentou convulsão, sem comer, emagrecimento progressivo e fraqueza, Mucosas hipocoradas, aumento de ingestão de água, linfonodos submandibulares aumentados, sialorreia, vômitos, enjoo, caquexia, hálito urêmico, rins diminuídos a palpação e irregulares	Escore corporal: 2 Coração: áreas milimétricas esbranquiçadas em AP (mineralização) Rins: superfície irregular +++ formando nodulações e áreas deprimidas Mucosas: hipocoradas +++ Músculos intercostais: focos de mineralização ++ Traqueia: líquido espumoso por toda sua extensão + Pulmão: edema +; enfisema de borda Fígado: superfície com áreas amarronzadas + Baço: aumentado (+) Demais órgãos sem alterações dignas de nota	Rim: infiltrado inflamatório linfocitário difuso córtex a pelve renal +++; fibrose ++, atrofia glomerular, focos difusos de mineralização (+); colônias bacterianas em pelve +; espessamento da membrana da cápsula de Bowman, esclerose glomerular; degeneração vacuolar dos túbulos renais ++ Demais órgãos sem alterações dignas de nota
7 (Controle)	II	Animal apresentou episódios de diarreia, e emagrecimento. Apresenta quadro de alopecia.	Escore corporal: 3 Coração: extensas áreas pálidas em VE e AP Rins: superfície irregular +++, com cistos milimétricos em região medular Boca: úlcera em comissura labial medindo 0,3 x 0,5 cm e bordos hiperêmicos Mucosas: hipocoradas + Pulmão: áreas de enfisema em bordos, ao corte fluindo líquido espumoso + Demais órgãos sem alterações dignas de nota	Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso ++; atrofia glomerular, espessamento da cápsula de Bowman, degeneração vacuolar difusa ++; fibrose ++ Demais órgãos sem alterações dignas de nota
8	II	Animal com quadro de anorexia, perda de peso.	Escore corporal: 3 Coração: difusamente pálido (+), com área de equimose em VE Rins: superfície irregular ++; diminuídos ++; áreas deprimidas e esbranquiçadas Mucosas: cianóticas + Cavidade abdominal: drenado 10mL de líquido sanguinolento com fibrina Fígado: superfície irregular, padrão lobular evidenciado +++; múltiplos nódulos milimétricos esbranquiçados; fluindo sangue ao corte + Baço: superfície irregular; hiperplasia da polpa branca Pâncreas: aumentado + Estômago: espessado +; múltiplas úlceras milimétricas com bordos hiperêmicos Demais órgãos sem alterações dignas de nota	Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso desde a região do córtex a pelve renal ++; focos aleatórios de degeneração vacuolar em túbulos contorcidos; atrofia e esclerose glomerular com espessamento da cápsula de Bowman Demais órgãos sem alterações dignas de nota

9	IV	Não informado	<p>Escore corporal: 3 Coração: difusamente pálido +++ Rins: superfície irregular ++; estrias esbranquiçadas em cortical e medular; direito diminuído ++; esquerdo com extensas área enegrecida Mucosas: hipocoradas ++ Traqueia: presença de líquido espumosos em toda sua extensão + Fígado: aumentado ++; bordos abaulados; superfície irregular +; fluído sangue ao corte ++ Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>	<p>Rins: infiltrado inflamatório difuso desde a região do córtex a medular ++; atrofia e esclerose glomerular com espessamento da cápsula de Bowman; focos de mineralização distrófica e aleatórios em córtex e medular ++; vasos apresentando parede espessada (reatividade); focos de fibrose aleatória ++ Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>
10	IV	Quadro de apatia, hiporexia e tenesmo	<p>Escore corporal: 3 Rim direito: presença de urólitos de 0,1 cm de diâmetros Mucosas: hipocoradas e equimoses multifocais em região de pelve Ambos os rins: superfície irregular com áreas deprimidas e avermelhadas Músculos intercostais: área de 0,5 cm de diâmetro irregular, esbranquiçada, rangendo ao corte na altura da 10ª costela Traqueia: líquido espumoso avermelhado em terço médio + Pulmão: esbranquiçados, firmes, milimétricos em superfície Fígado: superfície irregular, pálido + Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>	<p>Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso desde a região do córtex a medular +++; atrofia e esclerose glomerular com espessamento da cápsula de Bowman; congestão difusa + Fígado: focos aleatórios de degeneração vacuolar compatível com degeneração gordurosa + Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>
11	IV	Quadro de hiporexia, vômitos, emagrecimento progressivo	<p>Escore corporal: 2 Rins: superfície irregular, com presença de inúmeros cisto milimétricos Mucosas: hipocoradas + Fígado: aumentado +, presença de cistos em parênquima Estômago: presença de úlcera em mucosa medindo 0,6 x 0,4 cm Ovário: presença de inúmeros cisto. Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>	<p>Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso desde a região do córtex a medular +; atrofia e esclerose glomerular com espessamento da cápsula de Bowman; formação de inúmeros cistos de variados tamanhos em região de córtex Estômago: focos de mineralização aleatórios em mucosa e lâmina própria + Fígado: formações císticas de variados tamanhos (doença hepática policística) Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>
12	IV	Quadro de anorexia, perda de peso.	<p>Escore corporal: 2 Rins: diminuídos de tamanho, com aspecto irregular. Rim direito: com área de depressão em parênquima. Rim esquerdo: com moderada dilatação pélvica. Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>	<p>Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso em região de córtex e medular ++; atrofia glomerular com espessamento da cápsula de Bowman Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>
13	IV	Apetite reduzido, com episódios de vômito	<p>Escore corporal: 2 Necropsia estética Rins: diminuídos de tamanhos, com superfície irregular (coletados somente rins e coração para exame histopatológico)</p>	<p>Rins: focos de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário ++; focos aleatórios de mineralização +; aumento do filtrado glomerular, spessamento da cápsula de Bowman. Fígado: degeneração difusa ++ Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>
14	II	Quadro de emagrecimento progressivo, prostração, fraqueza, mucosas hipocoradas. Felv positivo.	<p>Escore corporal: 2 Rins: diminuídos de tamanhos, com superfície irregular (coletados somente rins e coração para exame histopatológico)</p>	<p>Rins: focos de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário em córtex ++; atrofia glomerular com espessamento da cápsula de Bowman; pequenos cistos distribuídos de forma aleatória em córtex renal Fígado: focos de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário ao redor dos canalículos biliares (colangite) ++ Demais órgãos sem alterações dignas de nota</p>
15	IV	Episódios de vômito, perda de	<p>Escore corporal: 2 Rins: diminuídos, presença de inúmeros</p>	<p>Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário distribuído de</p>

		peso progressivo, apatia e falta de apetite.	cistos Estômago: mucosa com aspecto rugoso Demais órgãos sem alterações dignas de nota	forma aleatória em córtex renal (+); focos de mineralização +; atrofia e espessamento da cápsula de Bowman, com ausência de glomérulo em alguns casos Demais órgãos sem alterações dignas de nota
16	IV	Quadro de anorexia, prostração, emagrecimento. Histórico de rins policísticos.	Escore corporal: 2 Rins: ambos policísticos Demais órgãos sem alterações dignas de nota	Rins: inúmeros cistos de diversos tamanhos presentes desde a região cortical a pelve, que comprimem o parênquima renal; focos difusos e de mineralização em interstício ++, túbulos e cápsula de Bowman. Nota-se a presença de raros glomérulos. Fígado: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (+) Demais órgãos sem alterações dignas de nota.
17	IV	Quadro de apatia, anorexia e emagrecimento progressivo	Escore corporal: 1 Rins: diminuídos de tamanho ++ Mucosas: hipocoradas + Fígado: padrão lobular evidenciado ++, áreas amareladas Baço: áreas de infarto Demais órgãos sem alterações dignas de nota	Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso em córtex. +++; focos de mineralização difuso ++; atrofia glomerular; espessamento da cápsula de Bowman; focos de mineralização em pelve +; degeneração vacuolar moderada e aleatória em córtex e medular + Demais órgãos sem alterações dignas de nota
18	IV	Quadro de apatia, emagrecimento, Presença de líquido em abdômen	Escore corporal: 2 Rins: diminuídos de tamanhos, com superfície irregular (coletados somente rins e coração para exame histopatológico)	Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso em córtex +; focos de mineralização difuso ++; atrofia glomerular. Intestino: proliferação neoplásica de origem mesenquimal de células redondas compatível com linfoma. Demais órgãos sem alterações dignas de nota
19	II	Quadro de apatia	Escore corporal: 3 Rins: diminuídos ++, superfície irregular, áreas com depressão na superfície externa Mucosas: hipocoradas + Traqueia: líquido espumoso esbranquiçado ++ Baço: diminuído + Colón: dilatado +++ Demais órgãos sem alterações dignas de nota	Rins: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso em córtex ++; atrofia glomerular; espessamento da cápsula de Bowman Demais órgãos sem alterações dignas de nota
20 (Controle)	-	Quadro emergencial de dispneia	Escore corporal: 3 Baço: aumentado + Estômago: erosões multifocais em região de piloro Traqueia: líquido espumosos, esbranquiçado ++ Demais órgãos sem alterações dignas de nota	Rins: sem alteração Demais órgãos sem alterações dignas de nota

Legenda: (+) intensidade leve; (++) intensidade moderada; (+++) intensidade acentuada.

Observou-se diminuição da expressão para anticorpo-cTnC em cardiomiócitos (áreas afetadas) em 9/18 gatos (50%), onde 7 apresentaram diminuição de cardiomiócitos isolados (38,8%) (Fig. 4) e 2 confirmaram perda em áreas extensas (11,1%) (Fig. 6). Destes 18 animais, 11 apresentaram aumento de troponina I sérica, dos quais, 6/11 (66,7%) apresentaram apenas 1 região afetada e 3/11 (33,3%) apresentaram 2 regiões afetadas. Das 8 áreas observadas, a região do coração mais frequentemente acometida foi o ápice (27,8%), seguida por ventrículo esquerdo (16,7%), músculo papilar direito (11,1%), músculo papilar esquerdo (5,6%) e ventrículo

direito (5,6%). A avaliação microscópica do coração mapeado por áreas e os resultados da análise imunohistoquímica estão resumidos no Quadro 3

Quadro 3: Avaliações microscópica e imunohistoquímica do coração

Gato	Avaliação microscópica (coloração H.E)	Imunorreatividade com anticorpo anti-troponina C
1	Sem alterações	Sem alteração
2	VD: aumento eosinofilia de alguns cardiomiócitos SIV: foco de infiltrado inflamatório discreto em meio aos cardiomiócitos.	Varição sutil do padrão de marcação de raros cardiomiócitos isolados em VD.
3	MPE: foco leve de fibrose perivascular	Sem alteração
4	MPD: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais e fibrose MPE: fibrose SIV: espessamento vascular AP: foco moderado de fibrose, aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais	Varição marcada no padrão de marcação; alguns miócitos isolados apresentam perda marcada da imunorreatividade em MPD e AP
5	Sem alterações	Sem alteração
6	AP: foco de mineralização	Sem alteração
7 (Controle)	Sem alteração	Sem alteração
8	VE: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais SI: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais	Varição sutil do padrão de marcação de raros cardiomiócitos isolados em VE
9	VE: focos discretos de mineralização distrófica MPD: focos discretos de mineralização distrófica e aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais	Varição sutil do padrão de marcação de raros cardiomiócitos isolados em MPD
10	VE: foco discreto de fibrose. AP: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais	Varição sutil do padrão de marcação de raros cardiomiócitos isolados em AP
11	Sem alteração	Sem alteração
12	Sem alterações	Sem alteração
13	SIV: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais	Sem alteração
14	AP: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais	Varição leve no padrão de marcação; alguns miócitos isolados apresentam perda marcada da imunorreatividade em AP
15	VE: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais SIV: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais AP: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais	Varição leve no padrão de marcação; alguns miócitos isolados VE/AP
16	AE: foco de mineralização VE: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais/ focos de mineralização ME: mineralização em íntima das artérias SIV: mineralização em íntima de artérias AP: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais/ mineralização de íntima de artérias e cardiomiócitos individuais	Varição marcada no padrão de marcação; alguns miócitos isolados apresentam perda marcada da imunorreatividade em VE/AP
17	AD: focos moderados de mineralização.	Sem alteração
18	MPE: aumento da eosinofilia em cardiomiócitos individuais	Varição discreta no padrão de marcação; alguns miócitos isolados apresentam perda moderada da imunorreatividade em MPE
19	Sem alterações	Sem alteração
20 (Controle)	Congestão difusa e moderada	Sem alteração.

Observou-se que o número de regiões com diminuição da expressão para anticorpo-cTnC em cardiomiócitos está forte e significativamente correlacionado apenas

com a troponina I sérica. Não foram observadas correlações significativas com as outras variáveis dos exames laboratoriais (Quadro 4).

Quadro 4: Diminuição da expressão para anticorpo-cTn C em cardiomiócitos por região do coração (%)

Região do coração	Diminuição da expressão para anticorpo anti-troponina C				Total
	Discreto	Leve	Moderado	Acentuado	
Átrio direito	0	0	0	0	0
Átrio esquerdo	0	0	0	0	0
Ventrículo direito	1 (8,3%)	0	0	0	1 (8,3%)
Ventrículo esquerdo	1 (8,3%)	0	0	2 (16,7%)	3 (25%)
Músculo papilar direito	1 (8,3%)	0	0	1 (8,3)	2 (16,7%)
Músculo papilar esquerdo	0	0	1 (8,3%)	0	1 (8,3%)
Septo interventricular	0	0	0	0	0
Ápice	1 (8,3%)	2 (16,7%)	0	2 (16,7%)	5 (41,7%)

Não foram observadas correlações significativas com as outras variáveis de exames laboratoriais (Quadro 5).

Quadro 5: Coeficiente de correlação de Spearman da relação do número de regiões com diminuição da expressão para anticorpo-cTnC em cardiomiócitos de gatos com DRC com variáveis de exames laboratoriais

Exames laboratoriais	Correlação Spearman	de p-valor	N
Creatinina Máxima	-0,0310	0,8998	19
Ureia Máxima	0,2435	0,3302	18
Hematócrito	0,2092	0,4048	18
Leucograma	0,2134	0,4109	17
Troponina	0,7651	0,0001	19
Creatinina 1	0,1778	0,4667	19
Creatinina 2	-0,2848	0,3457	13
Creatinina 3	-0,2062	0,6242	8
Creatinina 4	-0,2236	0,7177	5
Creatinina 5	-1,0000	1,0000	2
Ureia 1	0,3706	0,1301	18
Ureia 2	-0,1927	0,5938	10
Ureia 3	-0,4743	0,4195	5
Ureia 4	0	1,0000	3
Ureia 5	*	*	1

N: número de gatos que realizaram o exame; *Não foi possível calcular por existir apenas uma observação.

Dos 18 gatos, 5 (27,77%) estavam no estágio II, 1/18 (5,55%) no estágio III e 13/18 (72,2%) no estágio IV da IRIS. Obteve-se um p-valor igual a 0,6984 no teste exato de Fisher, sugerindo independência entre estágio IRIS e número de regiões com diminuição da expressão para anticorpo-cTnC em cardiomiócitos, isto é, a quantidade de regiões afetadas não está relacionada ao estágio da IRIS (Quadro 6).

Quadro 6: Número de gatos (percentual) classificados por Estádio IRIS e número de regiões com perda da eosinofilia em cardiomiócitos

Número de regiões afetadas	Estádio IRIS				Total
	Não observado	II	III	IV	
0	1 (5%)	3 (15%)	0	7 (35%)	11 (55%)
1	0	2 (10%)	1 (5%)	3 (15%)	6 (30%)
2	0	0	0	3 (15%)	3 (15%)
Total	1 (5%)	5 (25%)	1 (5%)	13 (65%)	20 (100%)

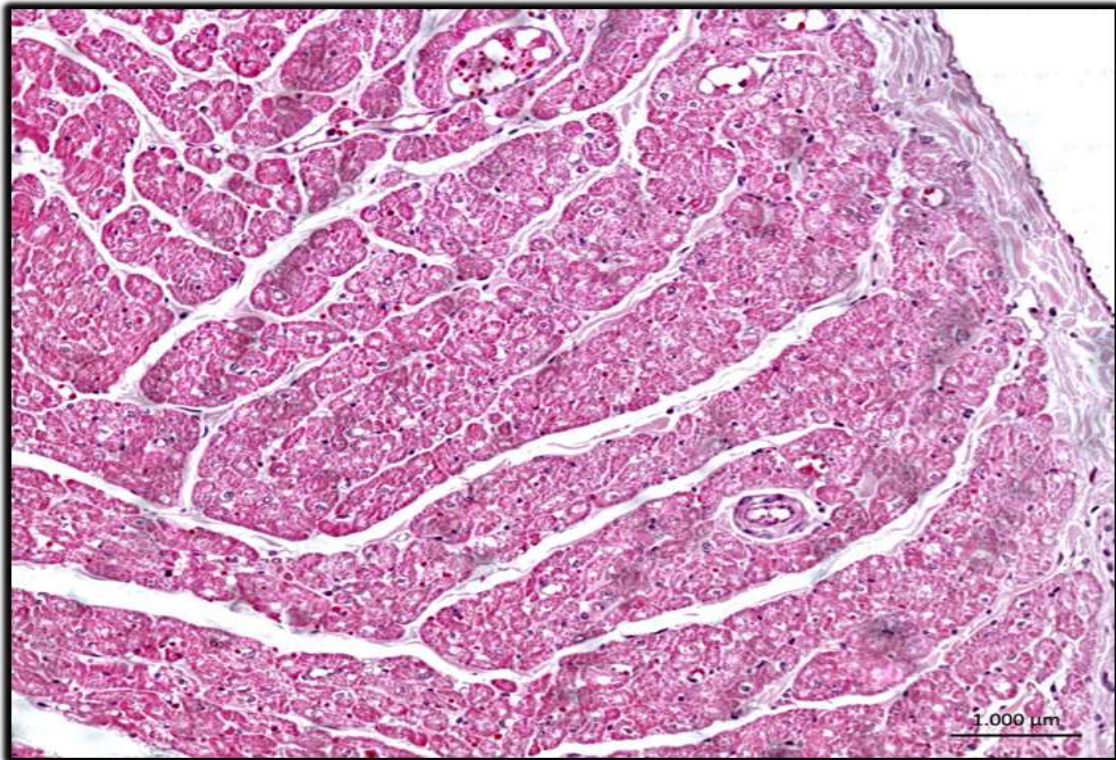


Figura 1. Corte histológico de coração. Animal controle. Coloração H&E, Objetiva 20X.

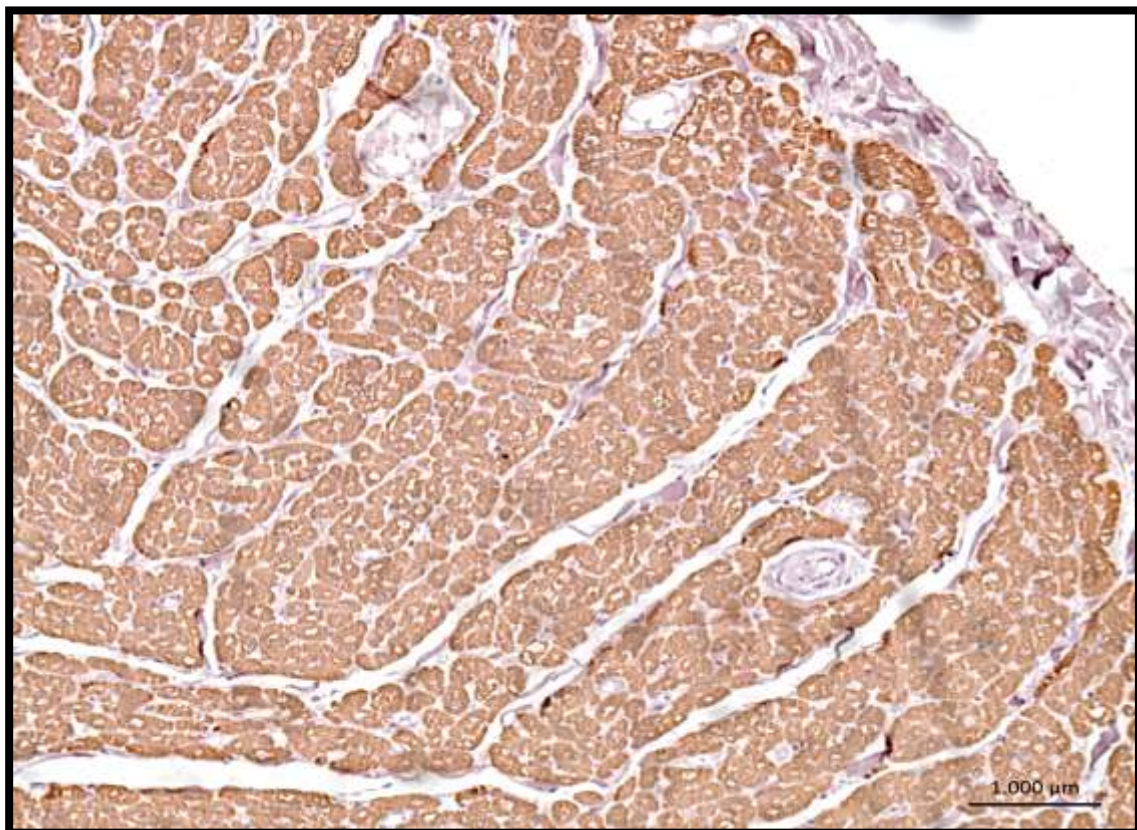


Figura 2. Corte histológico de coração com expressão para o anticorpo anti-cTnC. Animal controle. Objetiva 20X.

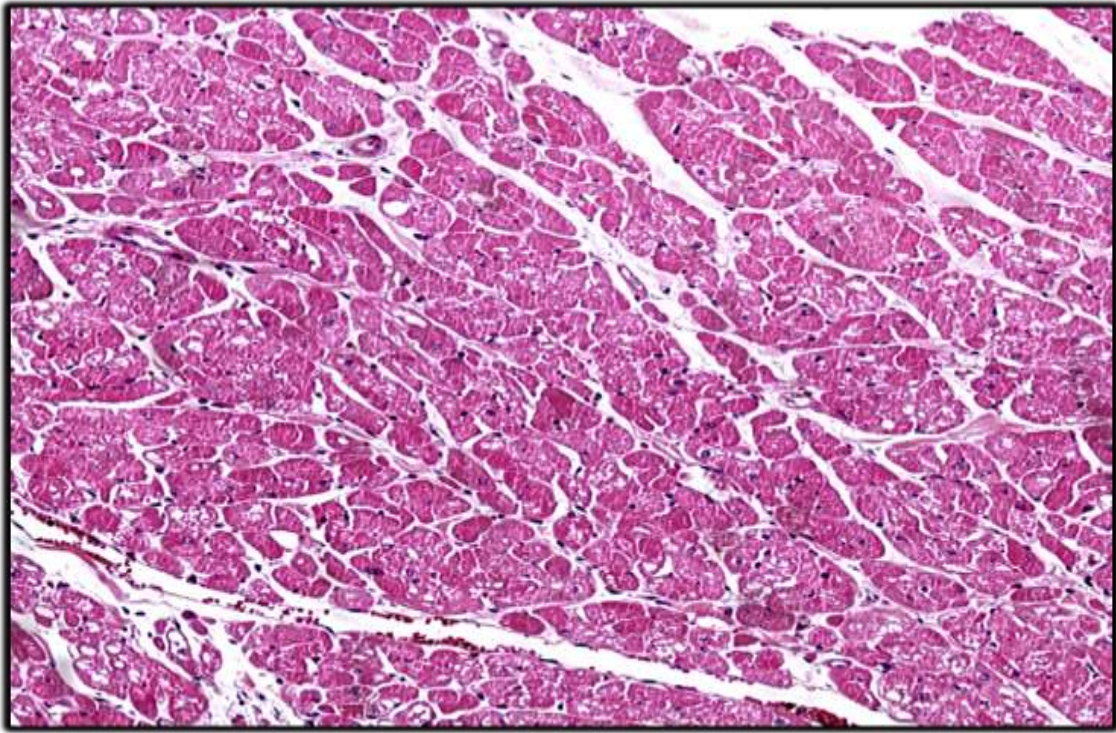


Figura 3. Área delimitada com poucos cardiomiócitos individuais hipereosinófilicos. Coloração H&E, Objetiva 20X.

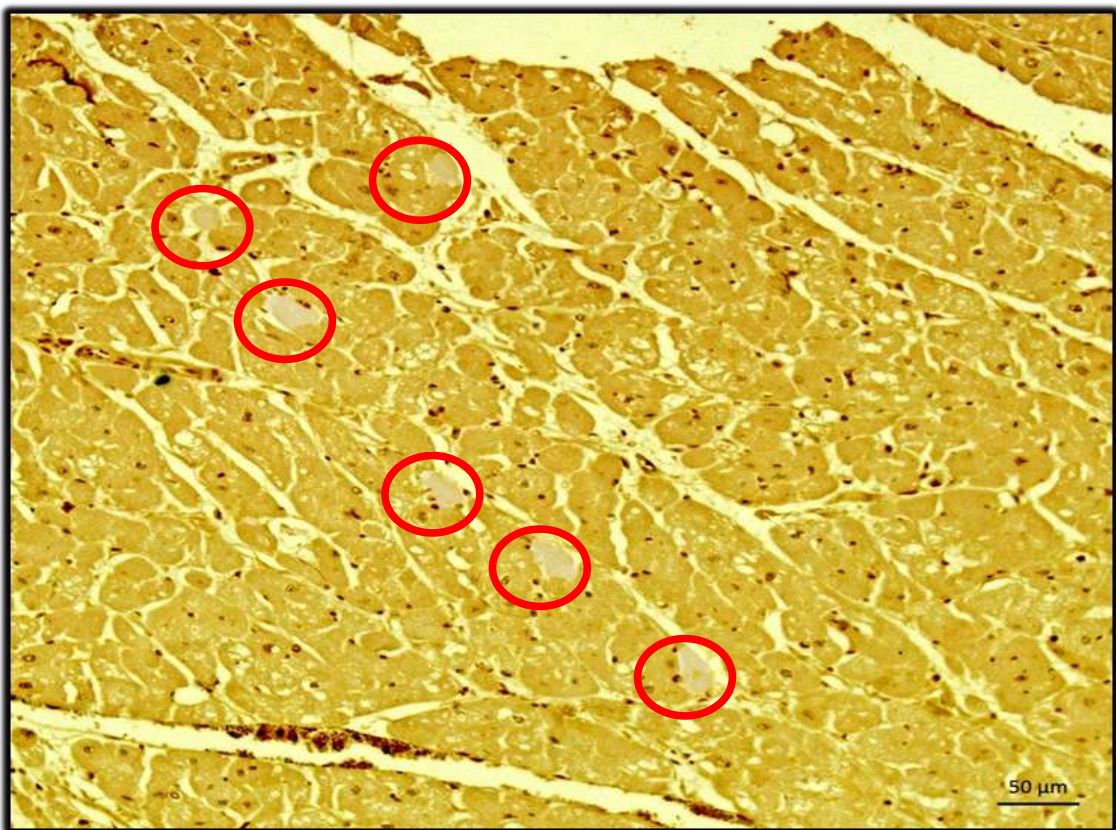


Figura 4. Diminuição discreta da expressão para o anticorpo anti-cTnC correspondente a área de hipereosinofilia de cardiomiócitos. Objetiva 20X.

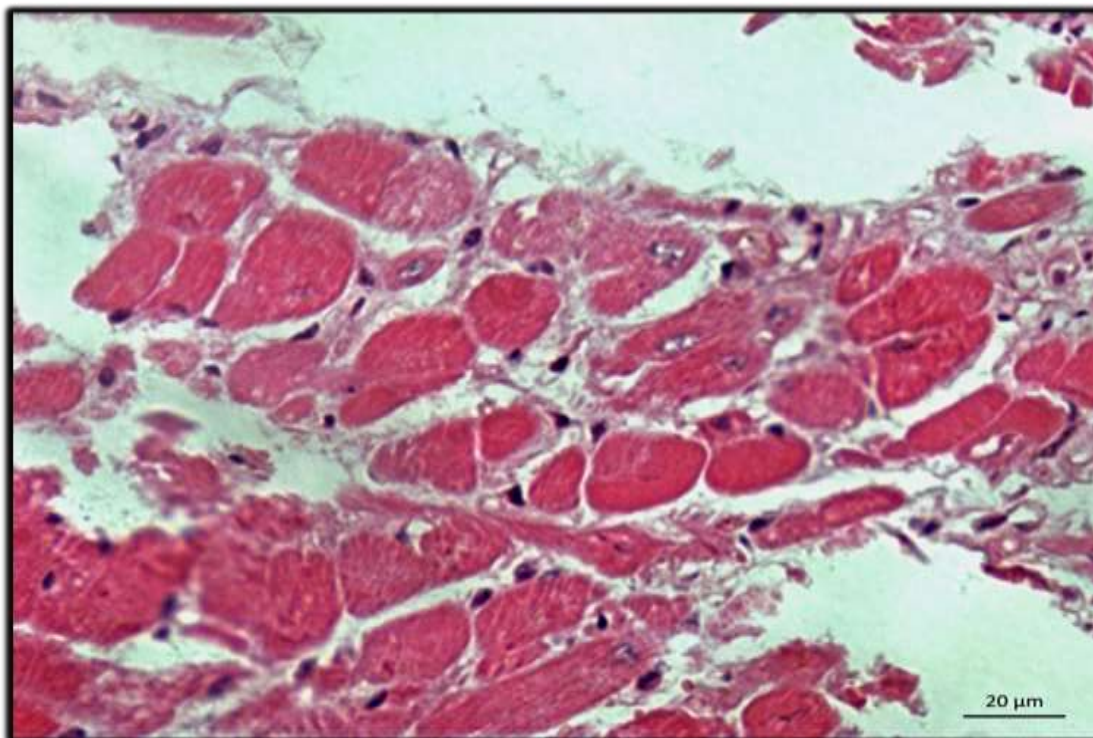


Figura 5. Área extensa com cardiomiócitos hipereosinofílicos. Coloração H&E, Objetiva 63X.

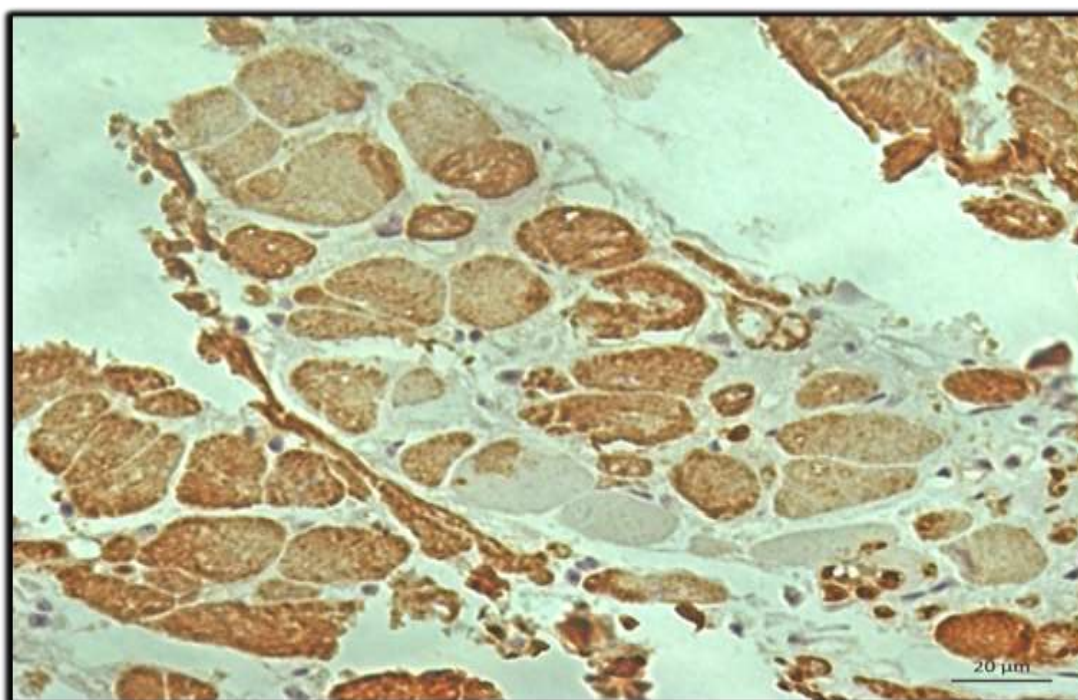


Figura 6. Diminuição da expressão para o anticorpo anti-cTnC correspondente a área de hipereosinofilia de cardiomiócitos. Objetiva 20X.

DISCUSSÃO

A Síndrome Cardiorrenal (SCR) é muito estudada na Medicina (Martin & Franco 2005) e, na Medicina Veterinária, a Síndrome Cardiovascular e Renal (SCvR) ganhou notoriedade. De acordo com a classificação de Pouchelon e colaboradores (2015), animais deste estudo desenvolveram o tipo da doença cardiovascular/disfunção secundária a doença renal primária e comprometimento concomitante de ambos os sistemas.

O uso de cTnI sérica como biomarcador de lesão cardíaca neste estudo auxiliou na identificação de lesões em cardiomiócitos na espécie felina. Langhorn e colaboradores (2019) observaram aumento da concentração sérica de cTnI em gatos com função renal comprometida e sem evidências de lesão cardíaca estrutural o que confirma seu possível indicador prognóstico em gatos com DRC. Este dado corrobora o verificado em nosso trabalho, em que gatos com DRC apresentaram aumento significativo de cTnI sérica. Com base nos resultados de Langhorn e colaboradores (2019), é altamente provável que o aumento do comprometimento da função renal reflita lesão miocárdica, ou pelo menos parcialmente, onde a lesão no miócito é induzida por uma doença não cardíaca. Este dano é correlacionado a co-dependência do sistema cardiorrenal, onde sua interação envolve mecanismos compartilhados (Ronco et al. 2014; Keller et al. 2016), bem como as causas para a remodelação cardíaca pela DRC incluiria a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) do sistema nervoso simpático após um declínio da TFG, os quais induzem doenças cardíacas e fibrose, além de toxinas urêmicas, hiperfosfatemia e anemia não regenerativa, hipóteses levantadas recentemente (Langhorn et al. 2019).

Nesses animais realizou-se uma dosagem de cTnI sérica, devido a custos elevados e disponibilidade dos proprietários para colheita de material. Entretanto, segundo a literatura, o aumento da concentração sérica de cTnI ocorre 4 a 6 horas após lesão ou necrose aguda do miocárdio de humanos (Nelson & Thompson, 2006; Jenkins et al. 2010), e que podem permanecer elevada por uma média de 7 a 10 dias após o episódio agudo (Sleeper et al. 2001), e demonstra que seu tempo prolongado de liberação permitem a confirmação do diagnóstico em três semanas (Godoy et al. 1998).

Em um estudo retrospectivo de Porciello e colaboradores (2008), demonstrou-se que cães e gatos com insuficiência renal aguda ou crônica geralmente apresentam níveis elevados de cTnI, com média de 72% dos gatos com insuficiência renal e sem quadro clínico aparente de doença cardíaca primária. Tanto em estudos anteriormente mencionados, como em nosso, justificaria a viabilidade e aplicação do uso da dosagem

sérica de cTnI em gatos diagnosticados com DRC primária para possível auxílio e verificação de lesões cardíacas secundárias precoces.

Dentre as principais lesões histológicas no coração de gatos diagnosticados com DRC, além de necrose de cardiomiócitos, observaram-se focos de fibrose e mineralização, tanto de miócitos, quanto de íntima de vasos do coração, ambas as alterações, vistas em 3/18 animais, além de arterioesclerose em apenas 1/18 gato. Embora esses achados tenham ocorrido de forma aleatória, a fibrose intersticial e/ou perivascular é relatada de forma secundária em animais com disfunção renal e pode ser explicada pelo desequilíbrio na homeostasia (Bagshaw et al. 2013), onde a sobrecarga de volume contribui para elevação da pré-carga, alterações no débito cardíaco e aumento da pós-carga, assim como ativação do sistema nervoso simpático (SNS) e sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), que levam ao desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica (Bagshaw et al. 2013) e a angiotensina II pode induzir a fibrose cardíaca (Kawano et al. 2000).

Neste estudo, ambos os animais que apresentaram focos de fibrose intersticial e/ou perivascular encontravam-se no estágio IV da IRIS, com sinais clássicos de uremia de uma DRC avançada. Em gatos (Langendorf & Pirani 1947), o que contrasta com os achados de d'Ávila e colaboradores (2016), onde grande parte dos cães com DRC apresentaram fibrose intersticial e/ou perivascular em diferentes estádios da IRIS.

A mineralização tanto em miócitos quanto em íntima de vasos, observada em 3/18 animais, pode ser correlacionada à deposição de minerais em tecidos submetidos à lesão prévia de necrose, ou seja, à mineralização do tipo distrófica (Alfrey et al. 2004; Cardoso et al., 2019). No trabalho de d'Ávila e colaboradores (2016), 100% dos cães avaliados apresentaram lesões endoteliais em diferentes intensidades, o que foi observado em apenas 1/18 gato de nosso estudo, todavia converge por sua vez com Dantas e colaboradores (1997), onde apenas 18% dos cães apresentaram lesões extrarrenais de uremia, como alteração vascular associada à necrose miocárdica e mineralização. Foram observados ainda necrose de coagulação e mineralização distrófica cardíaca em 43,7% e 25% cães com DRC, respectivamente no estudo de Cardoso e colaboradores (2019). As lesões desta natureza foram atribuídas a alterações nos vasos cardíacos em gatos com uremia e/ou alterações metabólicas e hemodinâmicas oriundas da SCvR, um vez que reforça a hipótese de que uma lesão distrófica precede a mineralização nos casos de lesões degenerativas, inflamatórias ou necróticas em cães urêmicos.

Em 9/18 gatos com DRC verificou-se redução dos níveis e até mesmo perda total de expressão da cTnC no sarcoplasma de grupos de cardiomiócitos ou miócitos isolados. Diminuição significativa na imunorreatividade ocorreu, sobretudo, em cardiomiócitos que apresentavam, ao exame histopatológico, aumento da eosinofilia citoplasmática, associado à picnose/cariorrexia nuclear. Nos miócitos remanescentes e intactos dos animais com lesão renal e daqueles utilizados como controle negativo, observou-se marcada imunorreatividade. São escassos os trabalhos que relatam o uso da técnica de imuno-histoquímica com anticorpo anti-troponina para detectar lesões cardíacas em medicina veterinária. Recentemente, verificaram-se, através da imuno-histoquímica para o anticorpo cTnC humano, lesões degenerativo-necróticas no coração de bovinos intoxicados por *Amorimia exotropica* (Pavarini et al. 2012; Bandinelli et al. 2014) e ovinos intoxicados por *Amaranthus spinosus* (Costa et al. 2016). Em cães, observaram-se, no miocárdio de animais infectados por *Dirofilaria immitis*, focos de cardiomiócitos hipereosinofílicos, com necrose de coagulação, inflamação neutrofílica e variação de sutil a leve no padrão de marcação de algumas fibras, com parte delas demonstrando perda total da troponina I (Carretón et al. 2012). Em 2016, d'Ávila e colaboradores realizaram a técnica de imuno-histoquímica em fragmentos de coração de 22 cães com diagnóstico prévio de DRC. No coração de 16 animais observaram-se grupos de cardiomiócitos hipereosinofílicos com citoplasma de aspecto homogêneo e, em alguns casos, havia perda de estriação e picnose e a avaliação imuno-histoquímica revelou, em todos os cães, diversos grupos de miócitos com redução significativa ou ausência de imunorreatividade para o anticorpo cTnC.

Este trabalho demonstra a relação do aumento da cTnI sérica, o aumento da eosinofilia citoplasmática de cardiomiócitos e confirma a lesão cardíaca incipiente pela perda da imunorreatividade para o cTnC no sarcoplasma e cardiomiócitos de gatos diagnosticados com DRC. Houve aumento da eosinofilia em cardiomiócitos, confirmada pela perda da troponina de miócitos cardíacos através da técnica de imuno-histoquímica com uso do anticorpo cTnC humano e estes achados corroboram os observados em cães com DRC e dirofilariose (D'ávila et al. 2016; Carretón et al. 2012), em ovinos com lesão nefrotóxica aguda e subaguda (Costa et al. 2016) e bovinos (Pavarini et al. 2012; Bandinelli et al. 2014) com lesões cardíacas, o que confirma a viabilidade da técnica para essas espécies. Com relação à extensão da lesão cardíaca nos gatos, observaram-se pequenos focos de necrose isolados ou em cardiomiócitos individuais, o que demonstra que mesmo em estádios avançados da DRC, as lesões cardíacas manifestam-se de forma diferente nessa espécie, o que pode ser explicado pela

diferente fisiopatogenia e consequente comportamento clínico-patológico para espécie felina (Braam et al. 2014). Na literatura há poucas evidências tanto em cães e gatos (Sampedrano et al. 2006, Wilson et al. 2010), quanto em humanos (Ronco et al. 2008), sobre a fisiopatogenia principalmente no que diz respeito a DRC como doença primária. Dentre as hipóteses abordadas, a hipertensão sistêmica secundária à doença renal é relatada como uma das principais causas de lesões cardíacas e pode afetar o coração de gatos através de lesões adaptativas ao aumento da pressão da carga no coração que em alguns casos promove a isquemia do miócito e consequente necrose (Carr & Egner 2009).

Neste estudo avaliou-se separadamente cada região do coração, para realização do mapeamento das principais áreas afetadas, onde em 9/18 animais (50%) apresentaram áreas específicas com necrose incipiente de cardiomiócitos em coloração de rotina, confirmadas pelo exame de imuno-histoquímica, com a perda da marcação com o anticorpo cTnC humano. Dentre as observações obteve-se o ápice (41,7%) como principal área afetada, seguida por ventrículo esquerdo (25%), músculo papilar direito (16,7%), músculo papilar esquerdo (8,3%) e ventrículo direito (8,3%), o que sugere uma maior pré-disposição da espécie a danos nessas regiões do coração. No estudo de Bandinelli e colaboradores (2014), ao mapear as áreas dos corações dos bovinos intoxicados por *Amorimia exotropica* verificou-se a área mais afetada como músculo papilar esquerdo como predisposta a esta doença. Nos estudos anteriores com utilização do anticorpo cTnC em fragmentos de miocárdio de cães (D'Ávila et al. 2016) e ovinos (Costa et al., 2016), não foi realizado mapeamento das áreas do coração.

No presente trabalho, os animais foram enquadrados nos diferentes estádios da IRIS mediante ao estabelecimento do histórico, anamnese e sinais clínicos compatíveis com DRC com mais de três meses de evolução, bem como exames laboratoriais, dosagens séricas de creatinina e ureia, realizadas em diferentes momentos ao longo da evolução clínica de cada gato. A creatinina foi utilizada como marcador principal para a classificação da IRIS, uma vez que é a substância mais utilizada para avaliação bioquímica da filtração glomerular (Junior & Williams 2010). Obtiveram-se 4/18 animais (2,25%) no estágio II, 1/18 (5,6%) no estágio III e a grande maioria 13/18 (72,2%) encontrava-se no estágio IV. Os sinais clínicos, bem como achados laboratoriais para cada animal confirmam os padrões estipulados pela IRIS para cada categoria. O predomínio do estágio IV da DRC caracteriza-se pela presença de intensa azotemia (creatinina sérica superior a 5,0mg/dL), com importante perda da função renal e diversas manifestações sistêmicas de uremia. Entretanto não foi observada correlação entre os estádios da IRIS com o au-

mento da cTnI sérica e a perda da imunorreatividade na IHQ mediante a análises estatísticas (p-valor igual a 0,5252 no teste exato de Fisher), o que sugere independência entre estadiamento da IRIS e ao número de regiões com diminuição da expressão para anti-corpo-cTnC em cardiomiócitos, isto é, a quantidade de regiões afetadas não está relacionada ao estadiamento da IRIS. Além da diferente fisiopatogenia de cada espécie para a DRC e SCvR, Porciello e colaboradores (2008) também sugerem que essa resposta seja individual, o que justifica a independência e a resposta a doença e consequente dados ao sistema cardiovascular para cada animal.

CONCLUSÕES

O aumento da cTnI sérica ocorre em gatos com comprometimento da função renal independentemente dos estádios da IRIS e seu aumento está correlacionado à extensão da lesão cardíaca observada na análise imuno-histoquímica;

O anticorpo anti-TnC humano demonstrou considerável viabilidade para utilização na espécie felina e avaliação imuno-histoquímica e se revelou uma ferramenta eficaz para auxiliar na detecção e extensão da lesão cardíaca em gatos diagnosticados com DRC;

Este estudo é inédito em correlacionar troponina I sérica com lesões histológicas através da técnica de imuno-histoquímica com a utilização do anticorpo cTnC, que demonstrou ser uma ferramenta capaz de auxiliar médicos veterinários patologistas na detecção e extensão da lesão cardíaca, na rotina e na pesquisa científica.

REFERÊNCIAS

- Alfrey A.C. 2004. The role of abnormal phosphorus metabolism in the progression of chronic kidney disease and metastatic calcification. *Kidney International*; v. 66, sup. 90, p. S13-S17.
- Bagshaw S.M., Hoste E.A., Braam B. Briguori C., Kellum J.A. & McCullough P.A. 2013. Cardiorenal Syndrome Type 3: Pathophysiologic and Epidemiologic Considerations. *Contributions to Nephrology*; v. 182, p. 137-157.
- Bandinelli M.B, Bassuino D.M, Fredo G. Mari C., Driemeier D., Sonne L. & Pavarini S.P. 2014. Identificação e distribuição de lesões cardíacas em bovinos intoxicados por *Amorimia exotropa*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*; 34(9), 837-844.
- Cardoso P.G., Pinto M.P., Moroz L.R., Fontes T.N., Santos R. S., Freitas J. L. Nogueira, V.A., & Peixoto T. C. 2019. Dystrophic mineralization in uremic dogs: an update. *Pesquisa Veterinária Brasileira*; 39(11), 889-899.
- Carmo P.M.S., Irigoyen, L.F., Lucena R.B., Figuera R.A., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2011. Spontaneous coffee senna poisoning in cattle: Report on 16 outbreaks. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 21, n.1, p. 139-146.
- Carretón E., Grandi G., Morchón R., Simón, F., Passeri B., Cantoni A.M. & Montoya-Alonso J.A. 2012. Myocardial damage in dogs affected by heartworm disease (*Dirofilaria immitis*): Immunohistochemical study of cardiac myoglobin and troponin I in naturally infected dogs. *Veterinary Parasitology*; v. 189, p. 390-393.
- Carr A.P & Egner B. 2009. Blood Pressure in Small Animals - Part 2: Hypertension-target organ damage, heart and kidney. *European Journal of Companion Animal Practice*; 19.1: 13-17.
- Costa S.Z., Peixoto P.V., Brust L.A.C., d'Avila M.S., Santos A.M., Driemeier D., Nogueira V.A. & França, T. N. 2016. Troponina C na detecção imuno-histoquímica de alterações regressivas precoces no miocárdio de ovinos naturalmente intoxicados por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae). *Pesquisa. Veterinária Brasileira*; 36(2), 83-89.
- Dantas A.F.M & Kommers G.D. 1997. Lesões extra-renais de uremia em 72 cães. *Ciência Rural*; v. 27, n.2, p. 301-306.
- D'Avila M.S., Franca T.N., Peixoto P.F.V., Peixoto T.C., Santos A.M., Costa S.Z.R., Santos R.S, Gonçalves T. & Nogueira V.A. 2016. Avaliações morfológica e imuno-histoquímica (Troponina C) de lesões cardíacas em cães com doença renal crônica. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 38, p. 128-138.
- Godoy M.F, Braile D.M, Neto J.P. & Purini Neto J. 1998. A troponina como marcador de injúria celular miocárdica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*; v. 71, n. 4, p. 629-633.
- Jenkins C.P, Cardona D.M, Bowers J.N., Oliai B. R., Allan R. W., & Normann S. J.2010. The utility of C4d, C9, and troponin T immunohistochemistry in acute myocardial infarction. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*; v. 134, p. 256-263.
- Junior K.J.K & Williams R.D. 2010. Exames laboratoriais em urologia. In: Tanagho EA, Mcaninch JW. *Urologia Geral de Smith*; 17ªed. Rio Grande do Sul. AMGH, cap. 5, p. 46-57.

Kawano H., Do Y.S., Kawano Y., Starnes V., Barr M., Law R.E., & Hsueh W.A. 2000. Angiotensin II Has Multiple Profibrotic Effects in Human Cardiac Fibroblasts. *Circulation*; v. 101, p. 1130-1137.

Keller S.P., Kovacevic A. & Howard J. 2016. Evidence of cardiac injury and arrhythmias in dogs with acute kidney injury. *Journal of Small Animal Practics*; 57: 402–408.

Langendorf R. & Pirani C.L. 1947. The Heart in Uremia - An Electrocardiographic and Pathologic Study. *American Heart Journal*; v. 33, n. 3, p. 282-307.

Langhorn R., Jessen L.R., Kloster A.S., Jensen A.P., & Koch J. 2019. Cardiac troponin I in cats with compromised renal function. *Journal of Feline Medicine and Surgery*; p. 1098612X18813427.

Martin L.C & Franco R.J. 2005. A Doença Renal Como Fator de Risco Cardiovascular. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*; v. 85, n. 6, p. 432-436.

Nelson O.L. & Thompson P.A. 2006. Cardiovascular dysfunction in dogs associated with critical illnesses. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 42:344–349.

Ortmann C., Pfeiffer H. & Brinkmann B. A. 2000. comparative study on the immunohistochemical detection of early myocardial damage. *International Journal of Legal Medicine*, v. 113, p. 215–220.

Pavarini S.P, Bandinelli M.B, Juffo G.D. Souza S.O.D., Driemeier D. & Cruz C.E.F.D. 2012. Decreased expression of cardiac troponin C is associated with cardiac lesions in *Amorimia exotropa* poisoned cattle. *Pesquisa Veterinária Brasileira*; v. 32, n. 10, p. 1005-1008.

Polzin D.J., Osborne C.A. & Ross S. 2005. Chronic Kidney Disease. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 6^aed. St. Louis. Elsevier Saunders, vol. 2, cap. 260, p. 1756-1785.

Porciello F., Rishniw M., Herndon W. E., Biretoni F., Antognoni M.T. & Simpson, K.W. 2008. Cardiac troponin I is elevated in dogs and cats with azotaemia renal failure and in dogs with non-cardiac systemic disease. *Australian Veterinary Journal*, 86(10), 390-394.

Pouchelon J.L., Atkins C.E., Bussadori C., Oyama M.A., Vaden S.L., Bonagura J.D. & Grauer, G.F. 2015. Cardiovascular–renal axis disorders in the domestic dog and cat: a veterinary consensus statement. *Journal of Small Animal Practice*, 56(9), 537-552.

Ribeiro R.C.H.M., Oliveira G.A.S.A., Ribeiro D.F., Bertolin D.C. Cesarino C.B., Lima L.C.E.Q. & Oliveira S.M. 2008. Caracterização e etiologia da insuficiência renal crônica em unidade de nefrologia do interior do Estado de São Paulo. *Acta Paulista de Enfermagem*, v. 21, n. especial.

Ronco C., Haapio M., House A.A., Anavekar N. & Bellomo, R. 2008. Cardiorenal syndrome. *Journal of the American College of Cardiology*, 52(19), 1527-1539.

Sleeper M.M., Clifford C.A. & Laster L.L. 2001. Cardiac Troponin I in the Normal Dog and Cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; v. 15, p. 501-503.

Santos A.M., Peixoto P.V., D'Ávila M.S., Peixoto T.C., França T.N., Costa S.Z., Cid G.C. & Nogueira, V. A. 2016. Troponin C in immunohistochemical detection of

early regressive myocardial lesions in cattle and sheep poisoned with sodium monofluoroacetate. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36(2), 67-72.

Stigger A.L., Barros C.S.L., Langohr I.M. & Barros S.S. 2001. Intoxicação experimental por *Ateleia glazioviana* (Leg.Papilionoideae) em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.21, n.3, p.98- 108.

Viswanathan G. & Gilbert S. 2011. The Cardiorenal Syndrome: Making the Connection. *International Journal of Nephrology*, v. 2011, p. 1-10.

Legendas das Figuras

Figura 1. Corte histológico de coração. Animal controle. Coloração H&E, Objetiva 20X.

Figura 2. Corte histológico de coração com expressão para o anticorpo anti-cTnC. Animal controle. Objetiva 20X.

Figura 3. Área delimitada com poucos cardiomiócitos discretamente hipereosinofílicos. Coloração H&E, Objetiva 20X.

Figura 4. Diminuição discreta da expressão para o anticorpo anti-cTnC correspondente a área hipereosinofilia de cardiomiócitos. Objetiva 20X.

Figura 5. Área extensa com cardiomiócitos hipereosinofílicos. Coloração H&E, Objetiva 63X.

Figura 6. Diminuição da expressão para o anticorpo anti-cTnC correspondente a área hipereosinofilia de cardiomiócitos. Objetiva 65X.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACIERNO, M.J.; LABATO, A. Hypertension in renal disease: diagnosis and treatment. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**. 20:23-30, 2005.

ADAMS, J.E.; ABENDSCHEIN, D.R.; JAFFE, A. S. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? **Circulation**, v. 88, p. 750-763, 1993.

AIRES, M.M. Excreção Renal de Solutos. In: AIRES, M.M. **Fisiologia**. 3ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, sec. 7, cap. 51, p. 730-747, 2008.

ALFREY, A.C. The role of abnormal phosphorus metabolism in the progression of chronic kidney disease and metastatic calcification. **Kidney International**, v. 66, sup. 90, p. S13-S17, 2004.

AMMANN, P.; MAGGIORINI, M.; BERTEL, O. Troponin as a risk factor for mortality in critically ill patients without acute coronary syndromes. **Journal of the American College of Cardiology**, 41:2004–2009, 2003.

ANTMAN, E.M.; TANASIJEVIC, M.J.; THOMPSON, B.; SCHACTMAN, M.; MCCABE, C.H.; CANNON, C.P.; FISCHER, G.A.; FUNG, A.Y.; THOMPSON, C.; WYBENGA, D.; BRAUNWALD E. Cardiac specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. **New England Journal of Medicine**, v. 335, n. 5, p. 1342-1349, 1996.

ARKER, V.J.; GILOR, C; CHEW, D.J. Feline hyperparathyroidism: pathophysiology, diagnosis and treatment of primary and secondary disease. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 17, n. 5, p. 427-439, 2015.

ASPRONI, P. Amyloidosis in association with spontaneous feline immunodeficiency virus infection. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 15, n. 4, p. 300-306, 2013.

ATABEK, M.E.; PIRGON, O.; ORAN, B.; ERKUL, I.; KURTOGLU, S. Increased cardiac troponin I concentration in diabetic ketoacidosis. **Journal Pediatric Endocrinology Metabolism**, 17:1077–1082, 2004.

BAGSHAW, S.M.; GEORGE, C.; DINU, I.; BELLOMO, R. A multi-centre evaluation of the RIFLE criteria for early acute kidney injury in critically ill patients. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 23, p. 1203-1210, 2007.

BAGSHAW, S.M.; HOSTE, E.A.; BRAAM, B.; BRIGUORI, C.; KELLUM, J.A.; MCCULLOUGH, P.A.; RONCO, C. Cardiorenal Syndrome Type 3: Pathophysiologic and Epidemiologic Considerations. **Contributions to Nephrology**, v. 182, p. 137-157, 2013.

BANDINELLI, M.B.; BASSUINO, D.M.; FREDO, G.; MARI, C.; DRIEMEIER, D.; SONNE, L.; PAVARINI, S.P. Identificação e distribuição de lesões cardíacas em bovinos intoxicados por *Amorimia exotropica*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 837-844, 2014.

BOYCE, J.; DIBARTOLA, S.P.; CHEW, D.J. Familial renal amyloidosis in Abyssinian cats. **Veterinary Pathology**, 21:33–38, 1984.

BROVIDA, C. Diagnóstico precoce de insuficiência renal crônica. **Waltham: Revista Focus. Royal Canin**, 2004.

BROWN, S.A.; CROWELL, W.A., BROWN, J.A., BARSANTI, J.A.; FINCO, D.R. **Pathophysiology and Management of Progressive Renal Disease**. Vet. J. 154, 1997.

BROWN, C.A. Chronic kidney disease in aged cats: clinical features, morphology, and proposed pathogeneses. **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 2, p. 309-326, 2016.

CAMPOBASSO, C.P.; DELL'ERBA, A.S.; ADDANTE, A.; ZOTTI, F.; MARZULLO, A.; COLONNA, M.F. Sudden cardiac death and myocardial ischemia indicators a comparative study of four immunohistochemical markers. **The American Journal of Forensic Medicine and Pathology**, v. 29, n. 2, p. 154-161, 2008.

CARMO, P.M.S.; IRIGOYEN, L.F.; LUCENA, R.B.; FIGHERA, R.A.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L. Spontaneous coffee senna poisoning in cattle: Report on 16 outbreaks. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n.1, p. 139-146, 2011.

CARDOSO, P.G.S.; PINTO, M.P.R.; MOROZ, L.R.; FONTES, T.N.; SANTOS, R.S.; FREITAS, J.L.; NOGUEIRA, V.A.; PEIXOTO, T.C. Dystrophic mineralization in uremic dogs: an update. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, dados não publicados, 2019.

CARRETÓN, E.; GRANDI, G.; MORCHÓN, R.; SIMÓN, F.; PASSERI, B.; CANTONI, A. M.; KRAMER, L.; MONTOYA-ALONSO, J.A. Myocardial damage in dogs affected by heartworm disease (*Dirofilaria immitis*): Immunohistochemical study of cardiac myoglobin and troponin I in naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 189, p. 390-393, 2012.

CARR, A. P.; EGNER B. Blood Pressure in Small Animals-Part 2: Hypertension-target organ damage, heart and kidney. **European Journal of Companion Animal Practice**, 19.1: 13-17, 2009.

CHAKRABARTI, S.; SYME, HM.; BROWN, C.A. Histomorphometry of feline chronic kidney disease and correlation with markers of renal dysfunction. **Veterinary Pathology**, 50(1):147–155, 2013.

CHANTRANUWAT, C.; QIAO, J.H.; KOBASHIGAWA, J.; HONG, L.; SHINTAKU, P.; FISHBEIN, M.C. Immunoperoxidase staining for C4d on paraffin-embedded tissue in cardiac allograft endomyocardial biopsies. **Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology**, v. 12, n. 2, p. 166-171, 2004.

CHEW, D.J.; CAROTHERS, M. Hypercalcemia. **Veterinary Clinics of North America**, n.19, p.265-287, 1989.

COSTA, S.Z.R.; PEIXOTO P.V.; D'AVILA, M.S.; SANTOS, A.M.; NOGUEIRA, V.A.; DRIEMEIER, D.; BRUST, L.A.C.; FRANÇA, T.N. Troponina C na detecção de alterações regressivas precoces no miocárdio de ovinos intoxicados naturalmente por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae). **Anais do VIII Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário**. VIII ENDIVET, Cuiabá, MT, 2014.

- CÔTÉ, E. Congestive Heart Failure. In: CÔTÉ, E. et al. **Feline cardiology**. 1ªed, Chichester: Wiley-Blackwell, Cap.19 p. 257-302, 2011.
- COWGILL, L.; KALLET, A. Systemic hypertension, p.360-364. In: Kierk, R. **Current veterinary therapy IX** (ed.) Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986.
- CUNNINGHAM, J.G.; KLEIN, B.G. Fisiologia renal. **Fisiologia dos animais Domésticos**. 4ª ed. Rio de Janeiro. Elsevier Sauders, p. 527-547, 2008.
- DAMMAN, K.; NAVIS, G.; SMILDE, T.D.J.; VOORS, A.A.; BIJ, W.V.D.; VELDHUISEN, D.J.V.; HILLEGE, H.L. Decreased cardiac output, venous congestion and the association with renal impairment in patients with cardiac dysfunction. **European Journal of Heart Failure**, v.9, p. 872-878, 2007.
- DAMMAN, K.; VOORS, A.A.; HILLEGE, H.L.; NAVIS, G.; LECHAT, P.; VELDHUISEN, D.J.V.; DARGIE, H.J. Congestion in chronic systolic heart failure is related to renal dysfunction and increased mortality. **European Journal of Heart Failure**, n.12, p. 974-982, 2010.
- DANTAS, A.F.M.; KOMMERS, G.D. Lesões extra-renais de uremia em 72 cães. **Ciência Rural**, v. 27, n.2, p. 301-306, 1997.
- D'AVILA, M.S.; FRANCA, T.N.; PEIXOTO, P.F.V.; PEIXOTO, T.C.; SANTOS, A.M.; COSTA, S.Z.R.; SANTOS, R.S; GONCALVES, T.; NOGUEIRA, V.A. . Avaliações morfológica e imunohistoquímica (Troponina C) de lesões cardíacas em cães com doença renal crônica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 38, p. 128-138, 2016.
- DE ZOYSA, J.R. Cardiac troponins and renal disease. **Nephrology (Carlton)**, 9:83–88, 2004.
- DHONT, A.; VANHOLDER, R.; BIESEN, V.W; Lamiere, N. The removal of uremic toxins. **Kidney International**. S58:S47-S58. 2000.
- DORAN, J.P.; HOWIE, A. J.; TOWNEND, J. N.; BONSER, R. S. Detection of myocardial infarction by immunohistological staining for C9 on formalin fixed, paraffin wax embedded sections. **Journal Clinical Pathology**, v. 49, p. 34-37, 1996.
- DRIEHUYS, S.; VAN WINKLE, T.J.; SAMMARCO, C.D, DROBATZ, K.J. Myocardial infarction in dogs and cats: 37 cases (1985–1994). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 213:1444–1448, 1998.
- ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. Chronic Kidney Disease. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 6ªed. St. Louis. Elsevier Saunders, vol. 2, cap. 260, p. 1756-1785, 2005.
- ESCALON, J.C.; WONG, S.S. False-positive cardiac troponin T levels in chronic hemodialysis patients. **Cardiology**, 87:268–9, 1996.
- FELDMAN, E.C. Disorders of the parathyroid glands. p.1437-1461. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of veterinary internal medicine**. 4ªed. Philadelphia: W.B. Saunders.v.2, 1995.

FONAROW, G.C.; UCLA. Cardiac Troponin I Assay Diagnostic Module. **Clinical Practice Guideline**, July, 1996.

GLICK, A.D.; HORN, R.G.; HOLSCHER, M. Characterization of feline glomerulonephritis associated with viral-induced hematopoietic neoplasms. **American Journal of Pathology**, 92: 321–327, 1978.

GODOY, M.F.; BRAILE, D.M.; NETO, J.P. A troponina como marcador de injúria celular miocárdica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 71, n. 4, p. 629-633, 1998.

GRIENDLING, K.K.; MINIERI, C.A.; OLLERENSHAW, J.D.; ALEXANDER, R.W. Angiotensin II Stimulates NADH and NADPH Oxidase Activity in Cultures Vascular Smooth Muscle Cells. **Circulation Research**, v. 74, n. 6, p. 1141-1148, 1994.

HEYWOOD, J.T. The Cardiorenal Syndrome: Lessons from the ADHERE Database and Treatment Options. **Heart Failure Reviews**, v. 9, p. 195-201, 2004.

HILLEGE, H.L.; NITSCH, D.; PFEFFER, M.A.; SWEDBERG, K.; MCMURRAY, J.J.V.; YUSUF, S.; GRANGER, C.B.; MICHELSON, E.L.; ÖSTERGREN, J.; CORNEL, J.H.; ZEEUW, D.; POCOCK, S.; VELDHUISEN, D.J. Renal Function as a Predictor of Outcome in a Broad Spectrum of Patients With Heart Failure. **Circulation**, v. 113, p. 671-678, 2006.

HU, B.J.; CHEN, Y.C.; ZHU, J. Z. Immunohistochemical study of fibronectin for postmortem diagnosis of early myocardial infarction. **Forensic Science International**, v. 78, p. 209-217, 1996.

IRIS 2019 Staging of CKD. Disponível em: <<http://www.iris-kidney.com/>>

JACKSON, G.; GIBBS, C.R.; DAVIES, M.K.; LIP, G.Y.H. ABC of heart failure. Pathophysiology. **British Medical Journal**, v. 320, p. 167-170, 2000.

JENKINS, C. P.; CARDONA, D. M.; BOWERS, J. N.; OLIAI, B. R.; ALLAN, R. W.; NORMANN, S. J. The utility of C4d, C9, and troponin T immunohistochemistry in acute myocardial infarction. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 134, p. 256-263, 2010.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. Depósitos minerais e pigmentos. In: JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6ª ed. São Paulo. Manole, cap. 3, p. 63-87, 2000.

JUNIOR, K.J.K; WILLIAMS, R.D. Exames laboratoriais em urologia. In: TANAGHO, E.A.; MCANINCH, J.W. **Urologia Geral de Smith**. Tradução da 17ªed. Rio Grande do Sul. AMGH, cap. 5, p. 46-57, 2010.

KAWANO, H.; DO, Y.S.; KAWANO, Y.; STARNES, V.; BARR, M.; LAW, R.E.; HSUEH, W.A. Angiotensin II Has Multiple Profibrotic Effects in Human Cardiac Fibroblasts. **Circulation**, v. 101, p. 1130-1137, 2000.

KELLER, S.P.; KOVACEVIC, A.; HOWARD, J. Evidence of cardiac injury and arrhythmias in dogs with acute kidney injury. **Journal of Small Animal Practics**, 57: 402–408, 2016.

KENT, S.P. Diffusion of myoglobin in the diagnosis of early myocardial ischemia. **Laboratory Investigation**, v. 46, p. 265-270, 1982.

KIDD, L.; STEPIEN, R.L.; AMRHEIW, D.P. Clinical findings and coronary artery disease in dogs and cats with acute and subacute myocardial necrosis: 28 cases. **Journal of the American Animal Hospital Association**, 36:199–208, 2000.

KOGIKA, M.M. **Avaliação do cálcio sérico ionizado em cães sadios e em cães com insuficiência renal crônica e acidose metabólica**. 134f. Tese (Livre docência em clínica veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2002.

LAMB, E.J.; WEBB, M.C.; ABBAS, N.A. The significance of serum troponin T in patients with kidney disease: a review of the literature. **Annals of Clinical Biochemistry**, 41:1–9, 2004.

LANGENDORF, R.; PIRANI, C.L. The Heart in Uremia - An Electrocardiographic and Pathologic Study. **American Heart Journal**, v. 33, n. 3, p. 282-307, 1947.

LANGHORN, R.; OYAMA, M.A.; KING, L.G. Prognostic importance of myocardial injury in critically ill dogs with systemic inflammation. **Journal Veterinary Internal Medicine**, 27: 895–903, 2013.

LANGHORN, R. & WILLESEN, J.L. **Cardiac troponins in dogs and cats**. **Journal Veterinary Internal Medicine**, 30: 36–50, 2016.

LANGHORN, R.; JESSEN, L.R.; KLOSTER, A.S.; JENSEN, A.O.; KOCH, J. Cardiac troponin I in cats with compromised renal function. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, p. 1098612X18813427, 2018.

LAGRAND, W.K.; NIESSEN, H.W.; WOLBINK, G.J.; JASPARS, L.H.; VISSER, C.A.; VERHEUGT, F.W.A.; MEIJER, C.J.L.M.; HACK, C.E. C-Reactive Protein Co localizes With Complement in Human Hearts During Acute Myocardial Infarction. **Circulation**, v. 95, p. 97-103, 1997.

LANGSTON, C. Managing fluid and electrolyte disorders in renal failure. *Veterinary Clinics of North America*: **Small Animal Practice**, v. 38, p. 677-697, 2008.

LANGSTON, C.E. Acute renal failure. In: SILVERS, D.C.; E HOPPER, K. **Small animal critical care medicine**. Missouri. Saunders Elsevier, cap. 135, p. 590-593, 2009.

LANGSTON, C.E. Urinary System. In: MORGAN, R.V. **Small Animal Practice - Client Handouts**. Missouri. Saunders Elsevier, sec. 7, p. 186- 216, 2011.

LAZZERI, C.; BONIZZOLI, M.; CIANCHI, G.; GENSINI, G. F.; PERIS, A. troponin I in the intensive care unit setting: from the heart to the heart. **Internal and Emergency Medicine**, v. 3, p. 9-16, 2008.

LEHNHARDT, A.; KEMPER, M.J. Pathogenesis, diagnosis and management of hyperkalemia. **Pediatric Nephrology**, v. 26, p. 377–384, 2011.

LEVEY, A.S.; BETO, J.A.; CORONADO, B.E.; EKNOYAN, G.; FOLEY, R.N.; KASISKE, B.L.; KLAG, M.L.; MAILLOUX, L.U.; MANSKE, C.L.; MEYER, K.B.;

PARFREY, P.S.; PFEFFER, M.A.; WENGER, N.K.; WILSON, P.W.F.; WRIGHT, J.T. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: What do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? **American Journal of Kidney Diseases**, v. 32, n. 5, p. 853–906, 1998.

LEVIN, A.; SINGER, J.; THOMPSON, C.R.; ROSS, H.; LEWIS, M. Prevalent Left Ventricular Hypertrophy in the Predialysis Population: Identifying Opportunities for Intervention. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 27, n.3, p. 347-354,1996.

LIBBY, P.; RIDKER, P.M.; MASERI, A. Inflammation and atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, n. 9, p. 1135-1143, 2002.

LOCATELLI, F.; CANAUD, B.; ECKARDT, K.U.; STENVINKEL, P.; WANNER, C.; ZOCCALI, C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 18, p. 1271-1280, 2003.

LONGENECKER, J.C.; CORESH, J.; POWE, N.R.; LEVEY, A.S.; FINK, N.E.; MARTIN, A.; KLAG, M.J. Traditional Cardiovascular Disease Risk Factors in Dialysis Patients Compared with the General Population: The CHOICE Study. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 13, p. 1918-1927, 2002.

LUCKE, V.M. Renal disease in the domestic cat. **Journal of Pathology and Bacteriology**, 95(1): 67–91, 1968.

LUNN, K. F. The kidney in critically ill small animals. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 41, p. 727-744, 2011.

MARKOU N, GREGORAKOS L AND MYRIANTHEFS P. **Increased blood troponin levels in ICU patients.** *Curr Opin Crit Care*; 17: 454–463, 2011.

MARTIN, L.C.; FRANCO, R.J. A Doença Renal Como Fator de Risco Cardiovascular. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 85, n. 6, p. 432-436, 2005.

MARTINS, H.; PEDRO, N.; CASTELLANO, M.; MONTEIRO, P.; MOURA, J.J.; PROVIDÊNCIA, L.A. Síndrome Cardio-Renal: Os Desafios no Tratamento da Insuficiência Cardíaca. **Acta Médica Portuguesa**, v. 24, p. 285-292, 2011.

MAXIE, M.G.; NEWMAN S.J. Urinary system. In: **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**.5th ed. Philadelphia. Elsevier Saunders, chapter 4, volume 2, p. 426-522, 2007.

MAXIE, M.G.; ROBINSON, W.F. Cardiovascular system. In: **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**.5^aed. Philadelphia. Elsevier Saunders, chapter 1, volume 3, p. 02-105, 2007.

MCLAURIN, M.D.; APPLE, F.S.; VOSS, E.M.; HERZOG, C.A.; SHARKEY, S.W. Cardiac troponin I, cardiac troponin T, and creatine kinase MB in dialysis patients without ischemic heart disease: evidence of cardiac troponin T expression in skeletal muscle. **Clinical Chemistry**, v. 43, n. 6, p. 976-982, 1997.

MCCULLOUGH, P.A. Why Is Chronic Kidney Disease the "Spoiler" for Cardiovascular Outcomes? **Journal of the American College of Cardiology**, v. 41, n. 5, p. 725-728, 2003.

- MCCULLOUGH, P.A. Cardiorenal Intersection: Crossroads to the Future. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 88, n.1, p. 100-108, 2007.
- MCLELAND, S.M.; CIANCIOLO, R.E.; DUNCAN, C.G.; QUIMBY, J.M. A comparison of biochemical and histopathologic staging in cats with chronic kidney disease. **Veterinary Pathology**, 52(3), 524-534, 2015.
- MCGROTTY, Y. Diagnosis and management of chronic kidney disease in dogs and cats. **In practice**, v. 30, n. 9, p. 502-507, 2008.
- NASH, A.; WRIGHT, N.; SPENCER, A. Membranous nephropathy in the cat: a clinical and pathological study. **Veterinary Record**, 105:71–77, 1979.
- NELSON, O.L.; THOMPSON, P.A.; Cardiovascular dysfunction in dogs associated with critical illnesses. **Journal of the American Animal Hospital Association**, 42:344–349, 2006.
- NEWMAN, S.J.; CONFER, A.W.; PANCIERA, R.J. Sistema urinário. In: MCGAVIN, M.D. e ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. Tradução da 4ª ed. Rio de Janeiro. Elsevier, sec. II, cap. 11, p. 613-692, 2009.
- NOHRIA, A.; HASSELBLAD, V.; STEBBINS, A.; PAULY, D.F.; FONAROW, G.C.; SHAH, M.; YANCY, C.W.; CALIFF, R.M.; STEVENSON, L.W.; HILL, J.A. Cardiorenal Interactions - Insights From the ESCAPE Trial. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 51, n. 3, p. 1268-1274, 2008.
- OFFERMAN, S.R.R.; LEERS, M.P.G.; SUYLEN, R.J.V.; NAP, M.; DAEMEN, M.J.A.P.; THEUNISSEN, P.H.M.H. Evaluation of the membrane attack complex of complement for the detection of a recent myocardial infarction in man. **The Journal of Pathology**, v. 191, p. 48-53, 2000.
- ORTMANN, C.; PFEIFFER, H.; BRINKMANN, B. A comparative study on the immunohistochemical detection of early myocardial damage. **International Journal of Legal Medicine**, v. 113, p. 215–220, 2000a.
- ORTMANN, C.; PFEIFFER, H.; BRINKMANN, B. Demonstration of myocardial necrosis in the presence of advanced putrefaction. **International Journal of Legal Medicine**, v. 113, p. 215–220, 2000b.
- OSBORNE, C. A.; STEVENS, J.B.; LULICH, J.P. A clinician's analysis of urinalysis p.136- 205. In: OSBORNE, C. A.; FINCO, D.R. (ed.) **Canine and Feline Nephrology and Urology**. 2th. Philadelphia: Willimas & Willkins, 93-109, 1995.
- PATEINAKIS, P.; PAPAGIANNI, A. Cardiorenal Syndrome Type 4 - Cardiovascular Disease in Patients with Chronic Kidney Disease: Epidemiology, Pathogenesis, and Management. **International Journal of Nephrology**, v. 2011, p. 1-8, 2011.
- PAVARINI, S.P.; BANDINELLI, M.B.; JUFFO, G.D.; SOUZA, S.O.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.E.F. Decreased expression of cardiac troponin C is associated with cardiac lesions in *Amorimia exotropa* poisoned cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1005-1008, 2012.

PELANDER, L.; HÄGGSTRÖM, J.; LEY, C.J. Cardiac troponin I and amino-terminal pro B-type natriuretic peptide in dogs with stable chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 31: 805–813, 2017.

PEMBERTON, C.J.; JOHNSON, M.L.; YANDLE, T.G.; ESPINER, E.A. Deconvolution analysis of cardiac natriuretic peptides during acute volume overload. **Hypertension**, v. 36, n. 3, p.355-359, 2000.

POLZIN, D.J.; OSBORNE, C.A.; ROSS, S. Chronic Kidney Disease. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 6^aed. St. Louis. Elsevier Saunders, vol. 2, cap. 260, p. 1756-1785, 2004.

PORCIELLO, F.; RISHNIW, M.; HERNDON, W.E.; BIRETONI, F.; ANTOGNONI, M.T.; SIMPSON, K.W. Cardiac troponin I is elevated in dogs and cats with azotemia renal failure and in dogs with non-cardiac systemic disease. **Australian Veterinary Journal**, <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2008.00345.x>, 2008.

POUCHELON, J. L.; ATKINS, C.E.; BUSSADORI, C.; OYAMA, M.A.; VADEN, S. L.; BONAGURA, J.D.;VAN ISRAËL, N. Cardiovascular–renal axis disorders in the domestic dog and cat: a veterinary consensus statement. **Journal of Small Animal Practice**, v. 56, n. 9, p. 537-552, 2015. 86, n. 10, p. 390-394, 2015.

REID, I.A. Interactions between ANG II, sympathetic nervous system and baroreceptor reflexes in regulation of blood pressure. **American Journal of Physiology**, v. 262, n. 6, p. E763-E778, 1992.

RIBEIRO, R.C.H.M.; OLIVEIRA, G.A.S.A.; RIBEIRO, D.F.; BERTOLIN, D.C.; CESARINO, C.B.; LIMA, L.C.E.Q.; OLIVEIRA, S.M. Caracterização e etiologia da insuficiência renal crônica em unidade de nefrologia do interior do Estado de São Paulo. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 21, n. especial, 2008.

RISHNIW, M.; THOMAS, W.P. Dynamic right ventricular outflow obstruction: a new cause of systolic murmurs in cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**,16:547–552, 2002.

RONCO, C. Cardiorenal and renocardiac syndromes: Clinical disorders in search of a systematic definition. **The International Journal of Artificial Organs**, v. 31, n. 1, p. 1-2, 2008a.

RONCO, C.; HOUSE, A.A.; HAAPIO, M. Cardiorenal syndrome: refining the definition of a complex symbiosis gone wrong. **Intensive Care Medicine**, v. 34, p. 957-962, 2008b.

RONCO, C.; HAAPIO, M.; HOUSE, A.A.; ANAVEKAR, N.; BELLOMO, R. Cardiorenal Syndrome. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 52, n. 19, p. 1527- 1539, 2008c.

RONCO, C. & DI LULLO L. Cardiorenal syndrome. **Heart Failure Clinics**, 10: 251–280, 2014.

ROSS, L. Hypertension and chronic renal failure. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery**. n.7, p.221-226, 1992.

RUIZ-ORTEGA, M.; LORENZO, O.; EGIDO, J. Angiotensin III increases MCP-1 and activates NF- κ B and AP-1 in cultured mesangial and mononuclear cells. **Kidney International**, v. 56, p. 2285-2298, 2000.

SAMPEDRANO. Systolic and diastolic myocardial dysfunction in cats with hypertrophic cardiomyopathy or systemic hypertension. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 20, n. 5, p. 1106-1115, 2006.

SANTOS, A.M., PEIXOTO, P.V., D'ÁVILA, M.S., PEIXOTO, T.C., FRANÇA, T.N., COSTA, S.Z., CID, G.C. & NOGUEIRA, V. A. Troponin C in immunohistochemical detection of early regressive myocardial lesions in cattle and sheep poisoned with sodium monofluoroacetate. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 36(2):67-72. 2016.

SANTOS, A.M.; D'AVILA, M.S.; COSTA, S.Z.R.; PEIXOTO, T.C.; NOGUEIRA, V.A.; FRANÇA, T.N.; PEIXOTO, P.V. Troponina C na detecção imunohistoquímica de alterações regressivas precoces no miocárdio de bovinos e ovinos intoxicados por monofluoroacetato de sódio. **Anais do VIII Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário**. VIII ENDIVET, Cuiabá, MT, 2014.

SCHIFFRIN, E.L.; LIPMAN, M.L.; MANN, J.F.E. Chronic Kidney Disease. **Circulation Research**.n.116, p.85-97, 2007.

SCHRIER, R.W. Cardiorenal versus renocardiac syndrome: is there a difference? **Nature Clinical Practice Nephrology**, v. 3, p. 637, 2007.

SILVA, A.R.; MARTIN, C.C.S.; ROSSI, M.A. Is immunohistochemistry a useful in the postmortem recognition of myocardial hypoxia in human tissue with no morphological evidence of necrosis? **The American Journal of Forensic Medicine and Pathology**, v. 23, n. 1, 2002.

SINGH, A.P.; MUTHURAMAN, A.; JAGGI, A.S.; SINGH, N.; GROVER, K.; DHAWAN, R. Animal models of acute renal failure. **Pharmacological Reports**, v. 64, p. 31-44, 2012.

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

STIGGER, A.L.; BARROS, C.S.L.; LANGOHR, I.M.; BARROS, S.S. Intoxicação experimental por *Ateleia glazioviana* (Leg.Papilionoideae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.21, n.3, p.98- 108, 2001.

SUTTON, R.A.L.; DIRKS, J.H. Disturbances of calcium and magnesium metabolism p.1038-1085. In: BRENNER, B. M.; RECTOR, F.C. **The Kidney**. 5^aed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996.

VAN KIMMENADE, R.R.J. & JANUZZI, J.L. The evolution of the natriuretic peptides current applications in human and animal medicine. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 11, p.9-21, 2009.

VANHOLDER, R.; SMET, R. Pathophysiologic effect of uremic retention solutes. **Journal of American Society and Nephrology**. n.10, p.1815-1823, 1999.

VANHOLDER, R.; LAECKE, S.V. What is new in uremic toxicity?. **Pediatric Nephrology**, n.23, p.1211-1221, 2008.

VERLANDER, J.W. Fisiologia renal. In: CUNNINGHAM, J.G.; KLEIN, B.G. **Fisiologia dos animais Domésticos**. 4ª ed. Rio de Janeiro. Elsevier Saunders, p. 527-547, 2008.

VISWANATHAN, G.; GILBERT, S. The Cardiorenal Syndrome: Making the Connection. **International Journal of Nephrology**, v. 2011, p. 1-10, 2011.

WOOD, G.N.; KEEVIL, B.; GUPTA, J. Serum troponin T measurement in patients with chronic renal impairment predicts survival and vascular disease: a 2 year prospective study. **Nephrology Dialysis Transplantation**, 18:1610–1615, 2003.

WURTINGER, G.; HENRICH, E.; HILDEBRANDT, N.; WIEDEMANN, N.; SCHNEIDER, M.; HASSDENTEUFEL, E. Assessment of a bedside test for N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) to differentiate cardiac from non-cardiac causes of pleural effusion in cats. **Bmc Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p.394, 2017.

YASOJIMA, K.; SCHWAB, C.; MCGEER, P.L. Human heart generates complement proteins that are upregulated and activated after myocardial infarction. **Circulation Research**, v. 83, n. 8, p. 860-869, 1998.

ZOYSA, J.R.D. Cardiac troponins and renal disease. **Nephrology**, v. 9, p. 83-88, 2004.

ANEXOS

ANEXO A: termo de consentimento dos proprietários dos gatos para inclusão dos animais no protocolo experimental.

ANEXO B: termo de consentimento livre esclarecido necropsia

ANEXO C: ficha de identificação, histórico, anamnese e sinais clínicos

ANEXO D: exames hematológicos, bioquímicos, Dosagem de Troponina e classificação da IRIS

ANEXO E: ficha de necropsia

ANEXO F: quadro de identificação e dados do animal

ANEXO G: quadro dos exames realizados em cada animal

ANEXO H: valores dos exames de creatinina realizados nos gatos em cada consulta

ANEXO I: valores dos exames de ureia realizados nos gatos em cada consulta

ANEXO J: região com perda da eosinofilia em cardiomiócitos individuais

ANEXO K: certificado de aprovação CEUA/UFRRJ

ANEXO L: imagens das lesões macroscópicas e microscópicas

ANEXO A



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas

Termo de Consentimento

Termo de consentimento dos proprietários dos gatos para inclusão dos animais no protocolo de estudo.

TESE: avaliações clínico-patológicas e imunohistoquímica de lesões cardíacas em gatos (*Felis catus*) com doença renal crônica

Responsável: Gabriela de Carvalho Cid

Eu, _____,

residente

a _____

_____, proprietário (a) do gato _____, da raça _____, de pelagem _____, autorizo a inclusão do meu animal no estudo acima mencionado.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 201__.

Assinatura

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO NECROPSIA

Pelo presente instrumento, eu, _____,
portador do CPF nº _____ residente à rua

nº _____, bairro _____ do município de
_____, Estado _____, telefone _____; declaro ser
proprietário e responsável pelo animal _____,
espécie _____ sexo _____ pelagem _____,
raça _____, idade _____ peso _____.
Autorizo a realização do exame de necropsia e declaro ter sido informado (a)
claramente sobre o procedimento de realização de necropsia do animal solicitado.

O exame de necropsia consiste na inspeção externa e na avaliação interna dos órgãos. Para maiores conclusões diagnósticas o Médico Veterinário pode precisar retirar uma amostra dos órgãos para posterior exame histológico dos tecidos no microscópio. Os termos médicos foram explicados e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas pelo Médico Veterinário Responsável. Neste mesmo ato, declaro estar ciente e concordo com todos os procedimentos necessários para a boa realização e conclusão do exame solicitado. Por fim, expresso minha concordância e é de livre e espontânea vontade que autorizo o procedimento de necropsia, assumindo a responsabilidade e os eventuais riscos decorrentes.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 201__.

Assinatura

ANEXO C

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL

Registro:

Proprietário:

Tel:

Endereço:

Cel:

Nome:

Raça:

Pelagem:

Peso:

Sexo: M F MC FC

Idade:

Data:**Histórico e Anamnese**

Apetite está diminuído/ausente?	Sim	Não
Notou perda de peso?	Sim	Não
Vomitou?	Sim	Não
Ingestão de água aumentada?	Sim	Não
Urinando mais que o usual?	Sim	Não
Disúria?	Sim	Não
Hematúria?	Sim	Não
Polaquiúria?	Sim	Não
Periúria?	Sim	Não
Constipação?	Sim	Não
Início dos Sinais há mais de 2 meses?	Sim	Não

Exame clínico

Hálito Urêmico?	Sim	Não
Estomatite/ Úlcera bucal?	Sim	Não
Sopro?	Sim	Não
Desidratação?	Sim	Não
Magro/ Caquético?	Sim	Não
Rins diminuídos a palpação?	Sim	Não
Rins Simétricos?	Sim	Não
Superfície renal irregular?	Sim	Não
Palpação renal dolorosa?	Sim	Não
Bexiga dilatada?	Sim	Não
Palpação da bexiga dolorosa?	Sim	Não
Febre?	Sim	Não
Hipertensão?	Sim	Não

PA: _____ mmHg

ANEXO D

Exames hematológicos/bioquímicos/Dosagem de troponina

Glicemia:

Hematócrito:

Leucograma total:

Uréia:

Creatinina:

Creatina quinase:

Troponina sérica:

Classificação na IRIS

De acordo com a Creatinina Sérica

Estádio I (<1,6)	Estádio II (1,6–2,8)	Estádio III (2,9-5)	Estádio IV (>5)
------------------	----------------------	---------------------	-----------------

De acordo com a Proteína/Creatinina Urinária

Não Proteinúrico (<0,2)	Limítrofe (0,2-0,4)	Proteinúrico (>0,4)
-------------------------	---------------------	---------------------

De acordo com a Pressão Arterial Sistólica em mmHg

Estádio 0 (<150)	Estádio 1 (150-159)	Estádio 2 (160-179)	Estádio 3 (\geq 180)
------------------	---------------------	---------------------	-------------------------

ANEXO E

FICHA DE NECROPSIA



DEPARTAMENTO DE EPIDEMIOLOGIA E SAÚDE PÚBLICA
ANATOMIA PATOLÓGICA
LAUDO DE NECROPSIA



ESPÉCIE	NOME	RAÇA	REGISTRO
IDADE	SEXO	PELAGEM	
PORTE	PROCEDÊNCIA		
ENDEREÇO		DATA E HORA DA MORTE DATA E HORA DA NECROPSIA	

ANAMNESE / HISTÓRICO CLÍNICO / DADOS EPIZOOTIOLÓGICOS:

SUSPEITA / DIAGNÓSTICO CLÍNICO:

Estado nutricional:

Pele / pelos:

Olhos:

Boca:

Narinas:

Orelhas:

Mucosas:

Glândula Mamária:

Vulva / Prepúcio:

Ânus:

Tecido subcutâneo:

Linfonodos superficiais:

Faringe / Laringe:

Tireoides / Paratireoides:

Pleura e Cavidade Torácica:

Esôfago:

Traqueia:

Pulmão:

Peritônio e Cavidade Abdominal:

Omento:

Baço:

Estômago:

Pâncreas:

Rúmen:

Reticulo:

Omaso:

Abomaso:

Figado:

Adrenal:

Linfonodos Mesentéricos:

Duodeno:

Jejuno:

Íleo:

Ceco:

Cólon:

Retor:

Rins:

Bexiga:

Sistema Reprodutor Masculino / Feminino:

Ossos:

Músculos:

Tendões / Articulações:

SNC:

OUTRAS OBSERVAÇÕES:

ALTERAÇÕES CADAVERICAS:

MATERIAL COLETADO:

DIAGNÓSTICO (S) ETIOLÓGICO(S) / MORFOLÓGICO (S)



Scanned with
CamScanner

ANEXO F

Quadro: identificação e dados do animal.

Gato	Idade	Sexo	Raça	Pelagem	Peso (Kg)
1	6 anos	F	SRD	Amarela	NI
2	5 anos	M	SRD	Preta	2,860
3	7 anos	M	SRD	Cinza/Branco	NI
4	12 anos	M	Persa	NI	NI
5	16 anos	F	SRD	Tigrado	2,700
6	10 anos	M	SRD	Branca	4,000
7	3 anos	M	Maine coon	Tigrada/Branca	4,500
8	20 anos	F	Siamês	Típica	3,400
9	15 anos	F	SRD	NI	NI
10	15 anos	F	Sagrado da Birmânia	NI	3,380
11	11 anos	F	SRD	NI	NI
12	23 anos	M	SRD	Amarelo/Branco	3,420
13	6 anos	F	SRD	Marrom	3,800
14	17 anos	M	SRD	Preto/Branco	3,300
15	4 anos	F	SRD	Branco/Amarelo	2,000
16	10 anos	F	SRD	Branco/Preto	1,700
17	6 anos	F	Persa	NI	NI
18	9 anos	M	SRD	Amarelo	4,800
19	11 anos	F	SRD	NI	NI
20	11 meses	M	SRD	NI	4,000

Legenda: M: macho/F: fêmea/SRD: sem raça definida/NI: não informado

ANEXO G

Quadro: exames realizados para cada animal

Gato	ID	Exame clínico	Creatinina	Ureia	Hg	Pressão arterial	Troponina séria	ECO	US	Necropsia	H.E	IHQ
1	15/16	-	X	X	X	-	X	-	-	X	X	X
2	106/16	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X
3	197/16	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X
4	263/16	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X
5	33835	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
6	63/17	X	X	X	X	-	X	-	-	X	X	X
7	93/17	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X
8	133/17	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X
9	309/17	X	X	X	X	-	X	-	-	X	X	X
10	326/17	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X
11	358/17	-	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X
12	34757	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X
13	34839	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	X
14	34842	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	X
15	34952	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X
16	34953	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
17	01/18	-	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X
18	34971	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	X
19	85/18	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	X
20	N77/18	X	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X

Legenda: ID: Identificação /HG: Hemograma/ ECO: Ecocardiograma/HE: Hematoxilina e Eosina/IHQ: Imunohistoquímica

ANEXO H

Quadro: valores dos exames de creatinina realizados nos gatos em cada consulta.

Gato	Creatinina mg/dL (1ª consulta)	Creatinina mg/dL (2ª consulta)	Creatinina mg/dL (3ª consulta)	Creatinina mg/dL (4ª consulta)	Creatinina mg/dL (5ª consulta)
1	1,4	1,7	2,0	1,3	-
2	2,4	2,3	2,9	1,8	2,9
3	10,8	8,7	13,0	-	-
4	6,8	-	-	-	-
5	5,60	4,20	4,70	5,00	6,00
6	8,3	10,4	11,3	-	-
7	1,65	-	-	-	-
8	1,99	2,2	-	-	-
9	6,33	-	-	-	-
10	6,8	5,0	-	-	-
11	8,8	-	-	-	-
12	3,5	4,9	8,2	5,6	-
13	9,2	17,4	-	-	-
14	1,8	2,8	-	-	-
15	8,4	2,6	6,0	2,1	-
16	9,40	7,7	6,6	-	-
17	8,0	-	-	-	-
18	10,9	-	-	-	-
19	1,53	2,8	-	-	-
20	-	-	-	-	-

Legenda: destacado em vermelho os maiores valores de creatinina obtidos por animal.

ANEXO I

Quadro: valores dos exames de ureia realizados nos gatos em cada consulta.

Gato	Ureia (1ª consulta)	Ureia (2ª consulta)	Ureia (3ª consulta)	Ureia (4ª consulta)	Ureia (5ª consulta)
1	39,0	53,0	-	45,0	-
2	73,9	77,1	67,9	52,1	72,7
3	130	104	130	-	-
4	308,2	-	-	-	-
5	112,0	152,0	-	-	-
6	430,6	231	-	-	-
7	73,0	-	-	-	-
8	81,1	188,5	-	-	-
9	206,1	-	-	-	-
10	226	-	-	-	-
11	241	-	-	-	-
12	125	205	325	320	-
13	252	276	-	-	-
14	-	-	-	-	-
15	226	149,0	53,0	-	-
16	276	159	218	-	-
17	200	-	-	-	-
18	309	-	-	-	-
19	47	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-

Legenda: destacado em vermelho os maiores valores de ureia obtidos por animal.

ANEXO J

Quadro: região com perda da eosinofilia em cardiomiócitos individuais.

Gato	Nº de regiões afetadas	Regiões afetadas
1	0	0
2	1	VD
3	0	0
4	2	MPD/AP
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	2	VE/SIV
9	1	MPD
10	1	AP
11	0	0
12	0	0
13	1	SIV
14	1	AP
15	3	VE/SIV/AP
16	2	VE/AP
17	0	0
18	1	MPE
19	0	0
20	1	SIV

Legenda: AD: átrio direito/AE: átrio esquerdo/VD: ventrículo direito/VE: ventrículo esquerdo/ MPD: músculo papilar direito/MPE: músculo papilar esquerdo/SIV: septo interventricular/AP: ápice

ANEXO K



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estudos clínico-patológico e imunohistoquímico (Troponina) de lesões cardíacas em gatos com doença renal crônica", protocolada sob o CEUA nº 7430260817 (ID 000982), sob a responsabilidade de **Vivian de Assunção Nogueira Carvalho** e equipe; *Gabriela de Carvalho Cid* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 10/05/2018.

ANEXO L

Lesões macroscópicas e microscópicas gerais dos animais incluídos no estudo



Figura 7. Trato urogenital. Rim direito diminuído e com a superfície irregular. Cornos uterinos moderadamente distendidos e preenchidos por um líquido translúcido (mucometra). Gato 1.

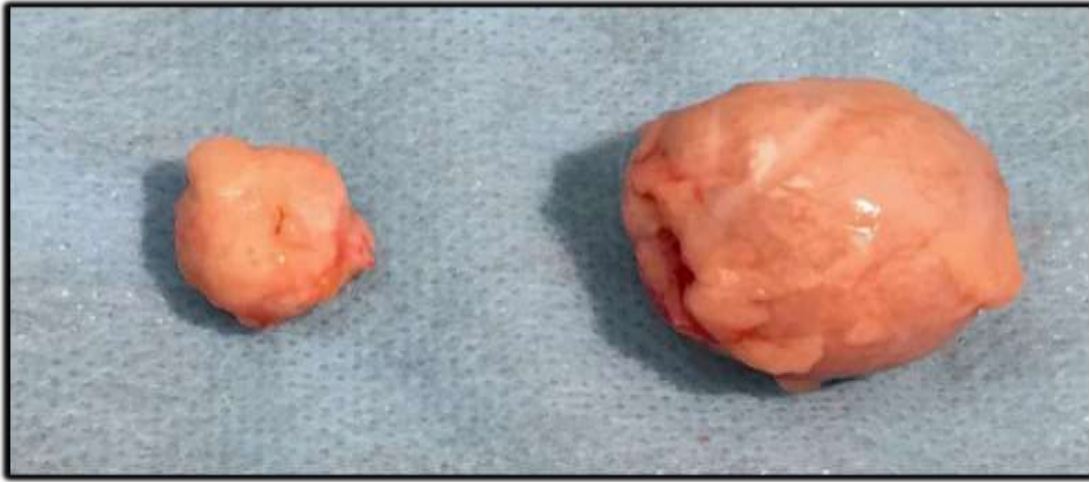


Figura 8. Superfície lateral. Rim direito medindo 1,3 x 1,9 cm com severa atrofia. Rim esquerdo medindo 3,0 x 3,2 cm. Ambos os rins com perda de sua arquitetura habitual, apresentando-se arredondado. Gato 5.



Figura 9. Superfície lateral. Ambos os rins com aspecto irregular e atrofia renal em rim direito. Gato 4.

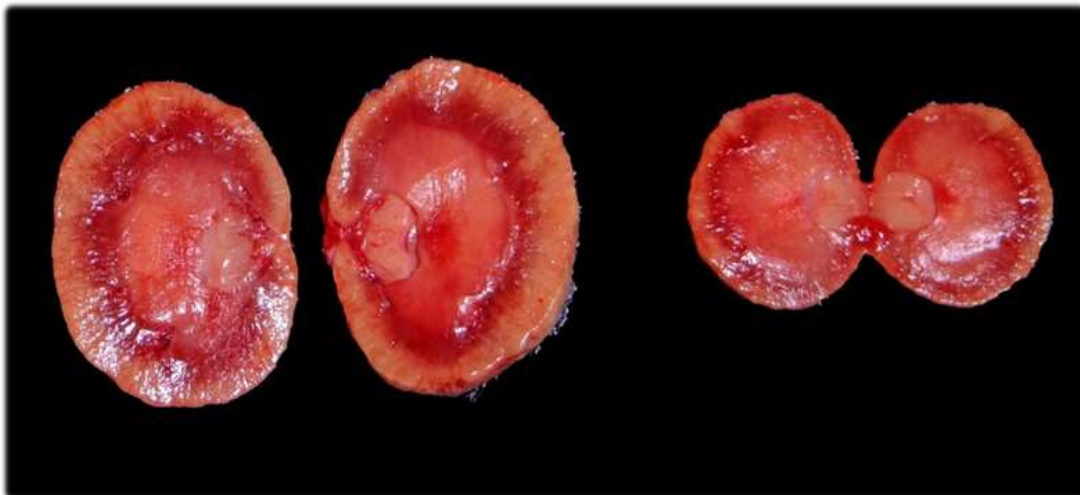


Figura 10. Corte sagital mediano. Rim direito com atrofia renal e alteração de proporção córtex medular. Gato 4.



Figura 11. Superfície lateral. Rim direito com severa atrofia renal e com superfície externa irregular. Rim esquerdo com atrofia e área de depressão em superfície externa . Gato 5.



Figura 12. Corte sagital mediano. Rim direito com perda da arquitetura habitual ao corte. Nota-se área esbranquiçada irregular, correspondente a área de mineralização. Gato 5.



Figura 13. Superfície lateral. Rins com superfície acentuadamente irregular e perda da arquitetura do órgão. Gato 6.

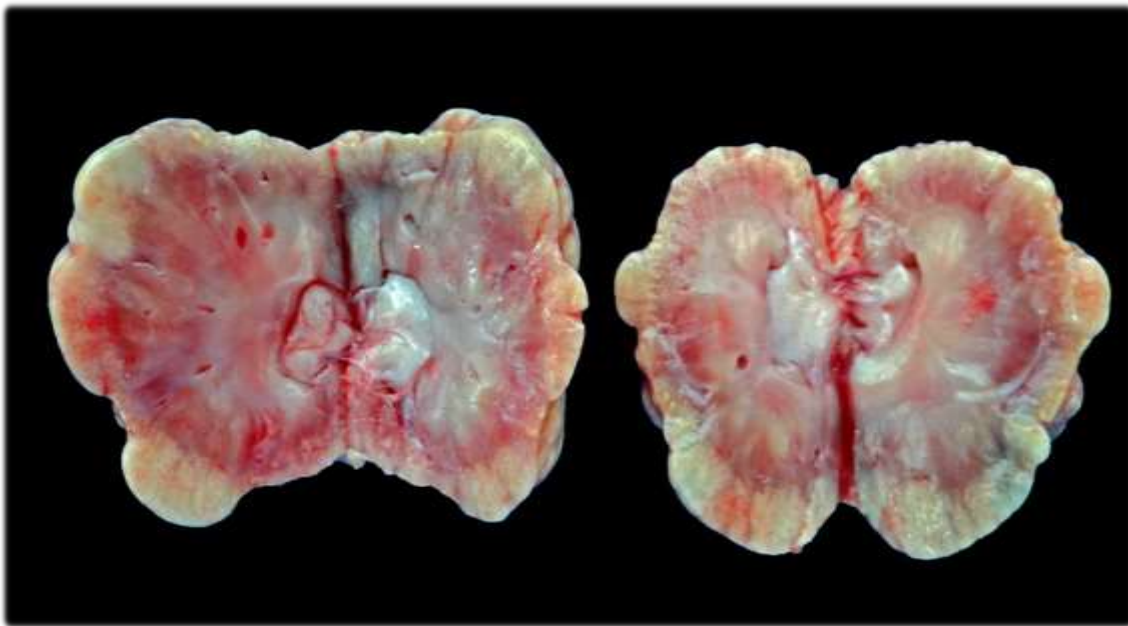


Figura 14. Corte sagital mediano. Ambos os rins com perda da arquitetura habitual do órgão. Gato 6.



Figura 15. Focos estriações esbranquiçadas na musculatura intercostal correspondentes a mineralização. Gato 6.



Figura 16. Superfície lateral. Ambos os rins com atrofia e superfície capsular irregular. Rim direito apresentando área em depressão no parênquima. Gato 12.



Figura 17. Corte sagital mediano. Rim esquerdo apresentando dilatação moderada da pelve renal. Gato 12.

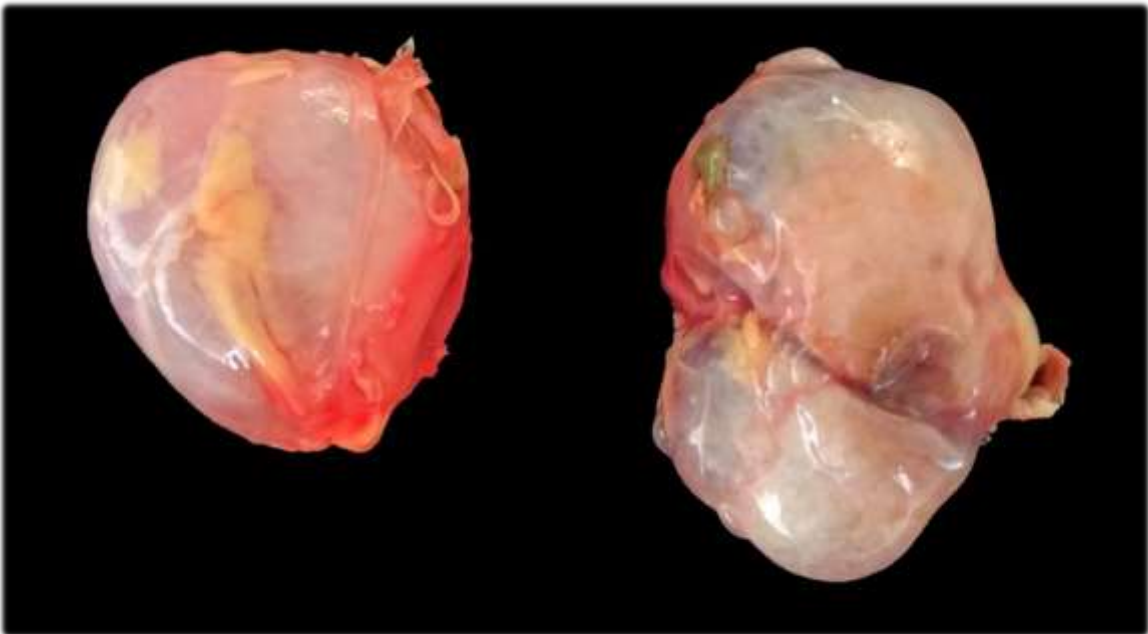


Figura 18. Superfície lateral . Ambos os rins com atrofia. Gato 15.



Figura 19. Estômago apresentando-se levemente edemaciado com áreas arenosas e aspecto ladrilhado em mucosa. Gato15.



Figura 20. Corte sagital mediano. Ambos os rins apresentando inúmeros cistos com destruição do parênquima renal. Gato 16.



Figura 21. Corte sagital mediano. Rim policístico em detalhe. Gato 16.

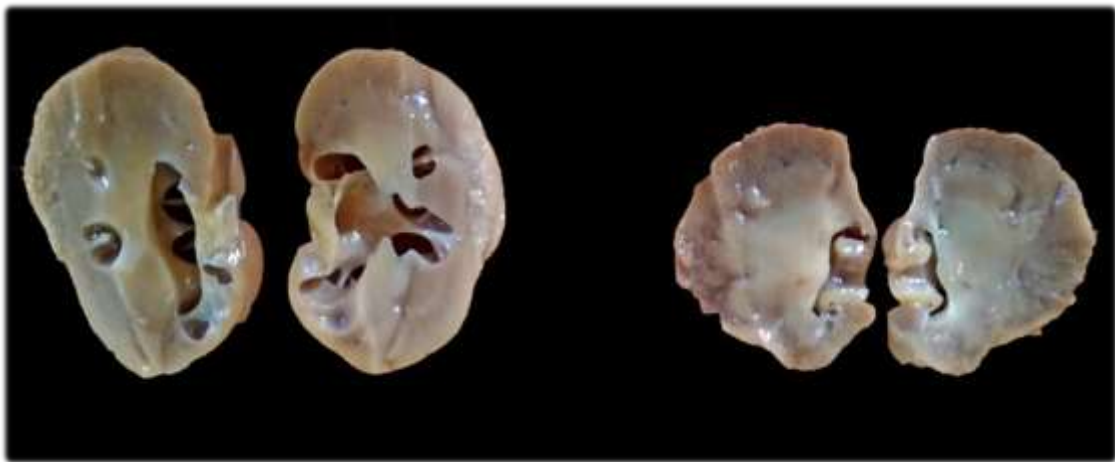


Figura 22. Corte sagital mediano. Ambos os rins com atrofia. Rim direito com presença de cistos. Gato 19.



Figura 23: Coração sendo seccionados transversalmente.



Figura 24A: Coração seccionado transversalmente em quatro secções equidistantes.

Figura 24B: Oito fragmentos de regiões distintas ápice, septo interventricular, ventrículo esquerdo, ventrículo direito, músculo papilar esquerdo, músculo papilar

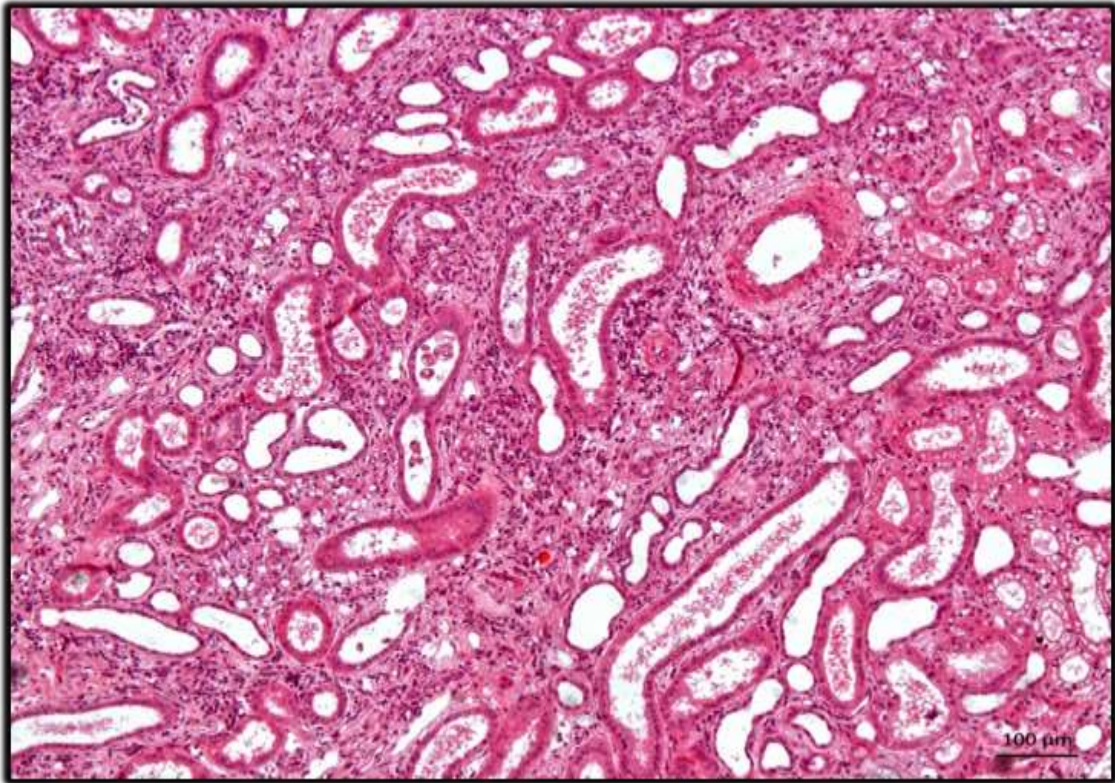


Figura 25 Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário difuso e moderado intersticial (nefrite crônica). Coloração H&E, Objetiva 10X. Gato 6.

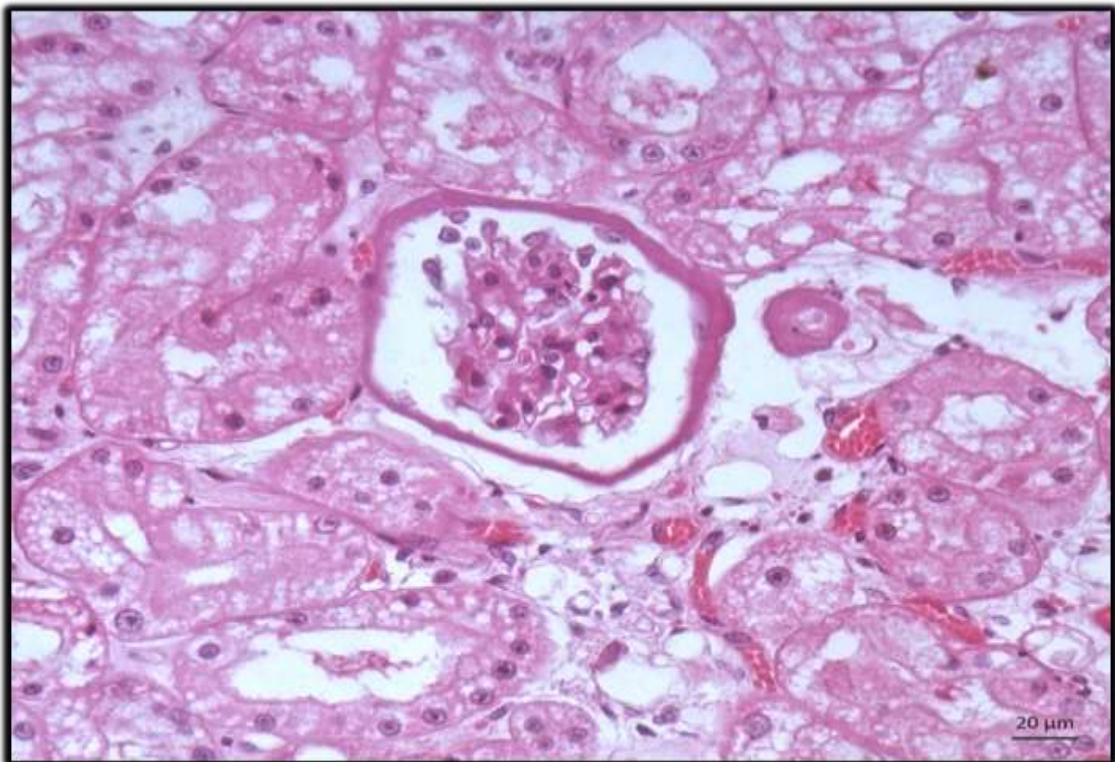


Figura 26. Atrofia glomerular com espessamento da cápsula de Bowman. Coloração de H&E, Objetiva 40X. Gato 8.

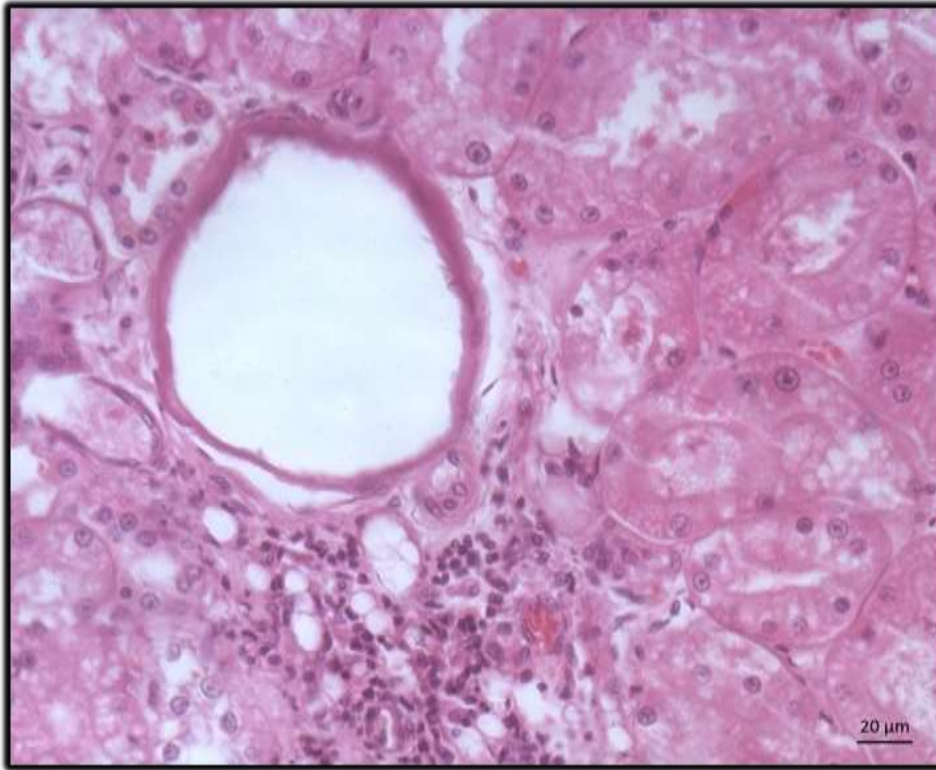


Figura 27. Cápsula de Bowman com ausência de glomérulo e foco discreto de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. Coloração de H&E, Objetiva 40X. Gato 15.

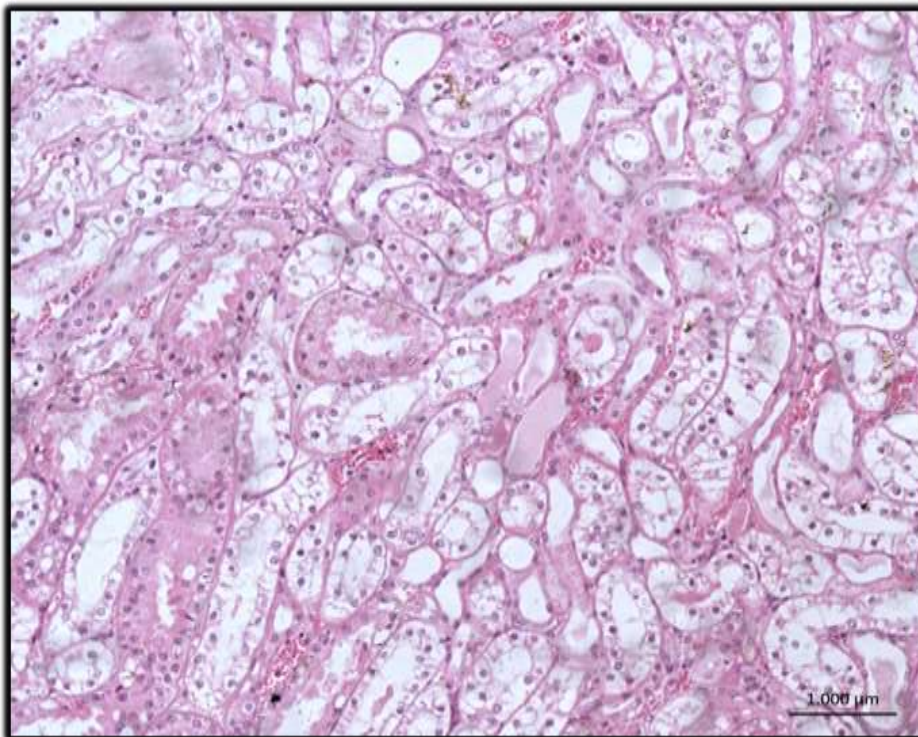


Figura 28. Degeneração vacuolar dos túbulos contorcidos. Coloração de H&E, Objetiva 20X. Gato 2.