

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

TESE

**ESTUDO DO BALANÇO SIMPATOVAGAL E DOS EFEITOS DO
PIMOBENDAN NA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA
DE CÃES PORTADORES DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA POR
DOENÇA VALVAR DEGENERATIVA CRÔNICA DE MITRAL SOB
TRATAMENTO.**

Daniel de Castro Trindade

2015



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

**ESTUDO DO BALANÇO SIMPATOVAGAL E DOS EFEITOS DO
PIMOBENDAN NA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA
DE CÃES PORTADORES DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA POR
DOENÇA VALVAR DEGENERATIVA CRÔNICA DE MITRAL SOB
TRATAMENTO.**

DANIEL DE CASTRO TRINDADE

Sob a Orientação do Professor
Emerson Lopes Olivares

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciências, no
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária, Área de
Concentração em Ciências
Clínicas

Seropédica, RJ
Julho de 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

DANIEL DE CASTRO TRINDADE

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

TESE APROVADA EM 29/07/2015

Emerson Lopes Olivares (Ph.D) UFRRJ
(orientador)

Fabio Silva de Azevedo Fortes (Ph.D) UEZO

Amarildo Miranda (Ph. D) FIOCRUZ

Anderson Luiz Bezerra da Silveira (Ph. D) UFRRJ

Jonimar Pereira Paiva (Ph. D) UFRRJ

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus por ter me concedido saúde e determinação ao decorrer do curso.

A minha esposa Raphaella de Oliveira Cunha Trindade e minha filha Liz Cunha Trindade pelo apoio, incentivo e confiança depositados em mim sempre.

Aos meus pais pelo apoio e incentivo em todos os momentos de minha vida.

Ao meu professor orientador Emerson Lopes Olivares pela oportunidade, pelos conhecimentos passados, pela confiança, paciência e principalmente pelo exemplo de profissional.

Ao professor Jonimar Pereira Paiva e a Residente Veterinária Carolina Aben Athar pelo auxílio e disponibilização de cães cardiopatas no Hospital Veterinário de Pequenos Animais da UFRRJ para realização desse estudo.

Aos demais professores do DCF (Departamento de Ciências Fisiológicas) da UFRRJ (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro) e do Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, pelo apoio recebido.

Aos colegas veterinários das Clínicas Clínica (Resende – RJ), CISA (Campo Grande – RJ) e Clínica de Pequenos Animais do UBM (Barra Mansa – RJ), que me forneceram pacientes e auxílio para que esse estudo pudesse ser realizado.

RESUMO

TRINDADE, Daniel de Castro. **ESTUDO DO BALANÇO SIMPATOVAGAL E DOS EFEITOS DO PIMOBENDAN NA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE CÃES PORTADORES DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA POR DOENÇA VALVAR DEGENERATIVA CRÔNICA DE MITRAL SOB TRATAMENTO**. 2015. 68p Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) constitui um método capaz de aferir a modulação do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) sobre o coração, permitindo determinar possíveis alterações simpátovagais. A análise do domínio de tempo e frequência são tipos de processamento de sinal utilizados para investigar essa variabilidade, ambos dependentes da eficácia das medidas dos intervalos RR. O objetivo deste estudo foi avaliar o balanço simpátovagal através da análise da VFC pelo método de Holter em cães portadores de doença valvar submetidos à terapia farmacológica convencional para insuficiência cardíaca ou associada à droga Pimoendan. Utilizamos 37 cães adultos (13 machos e 24 fêmeas), de 03 a 14 anos de idade e de diferentes raças, formando 03 grupos experimentais: CONT (cães saudáveis não submetidos a qualquer tratamento); CTP (cães cardiopatas submetidos à terapia convencional para ICC) e CTP + Pimo (cardiopatas submetidos à terapia convencional para ICC, associada ao Pimobendan). O exame Holter foi realizado em diferentes clínicas veterinárias do estado do RJ, com duração de 30 minutos e após um período mínimo de 30 dias do início das terapias. Os parâmetros estudados foram: frequência cardíaca mínima; média; máxima e N° QRS. No domínio do tempo foram estudados os valores de: NN médio, SDNN, SDANN, SDNN índice, rMSSD e pNN50. No domínio da frequência foram estudados os valores: HF; LF; VLF; LF/HF. Os valores estatísticos foram representados como média \pm s.e.m. Os valores médios das frequências cardíacas mínima, média, máximas e número de complexos QRS apresentados pelos cães dos diferentes grupos não mostraram significância estatística ($P > 0,05$). Nos valores médios do estudo da VFC no domínio do tempo, os animais dos grupos CTP e CTP + Pimo apresentaram redução significativa ($P < 0,05$) dos seguintes parâmetros (SDNN; SDANN; SDNNIDX; RMSSD e pNN50) *vs* grupo CONT. No domínio da frequência, os grupos CTP e CTP + Pimo mostraram valores significativamente inferiores da potência total de espectro *vs* CONT ($P < 0,05$); menores valores de LF do grupo CTP *vs* grupo CONT ($P < 0,05$); maiores valores de LF do grupo CTP + Pimo *vs* CTP ($P < 0,05$), menores valores de VLF do grupo CTP + Pimo *vs* CONT ($P < 0,01$); menores valores da razão LF/HF do grupo CTP *vs* CONT ($P < 0,05$) e maiores valores para CTP + Pimo *vs* CTP ($P < 0,01$). Nosso estudo mostrou mudanças significativas da redução da VFC nos domínios do tempo e da frequência nos grupos CTP e CTP + Pimo quando comparados ao grupo CONT. Porém, cães tratados com Pimobendan não mostraram evidência significativa em melhora de seus parâmetros da VFC quando comparado aos outros cães cardiopatas que não receberam esta droga, pelo menos durante o período proposto nesse estudo. As alterações em parâmetros da VFC em cães cardiopatas foram capazes de se manter mesmo trabalhando com pacientes apresentando grande diversidade racial, de pesos, sexo e idade; mostrando valores significativamente inferiores nos domínios do tempo e frequência quando comparados aos cães normais. A terapia com Pimobendan, ainda não descrita na literatura como capaz de influenciar parâmetros da VFC em cães cardiopatas, em nosso estudo mostrou que animais tratados com essa droga apresentaram maior modulação simpática, comprovada através da relação LF/HF.

Palavras-chave: Cães, Variabilidade da frequência cardíaca, Pimobendan.

ABSTRACT

TRINDADE, Daniel de Castro. **STUDY OF SIMPATOVAGAL BALANCE AND EFFECTS OF PIMOBENDAN IN THE HEART RATE VARIABILITY IN DOGS WITH HEART FAILURE BY DEGENERATIVE CHRONIC VALVULAR MITRAL DISEASE UNDER TREATMENT.** 68p Thesis (Doctor Science in Veterinary Medicine, Clinical Sciences). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

The heart rate variability (HRV) consist in a method able of assess the modulation of the autonomic nervous system (ANS) on the heart, allowing to determine possible simpatovagal changes. The analysis of time and frequency domain are types of signal processing used to investigate this variability, both dependent of the measures of RR intervals. The aim of this study was to evaluate the simpatovagal balance through HRV analysis by Holter method in dogs with valvar disease submitted to convencional drug therapy for heart failure or associate with Pimobendan. We used 37 adult dogs (13 males and 24 females), 03-14 years old and different breeds constituting 03 groups: CONT (healthy dogs without any treatment); CTP (dogs with heart failure receiving conventional therapy for CHF) and CTP + Pimo (dogs with heart failure receiving conventional therapy for CHF, associated with Pimobendan). The Holter examination was performed in different veterinary clinics in the Rio de Janeiro state, lasting 30 minutes and after a minimum period of 30 days from starting treatment. The parameters studied were: minimum heart rate; mean; maximum and QRS number. In the time domain were studied values: NN mean, SDNN, SDANN, SDNN index, rMSSD and pNN50. In the frequency domain the values studied were: Fc; HF; LF; VLF; LF / HF. Statistical values were showed as mean \pm sem. The mean values of minimum heart rate, mean, maximum and QRS complex number of the different groups showed no statistical significance ($P > 0.05$). The mean values of the study of HRV in the time domain, the CTP and CTP + Pimo groups showed significant reduction ($P < 0.05$) of the following parameters (SDNN; SDANN; SDNNIDX; RMSSD and pNN50) *vs* CONT group. In the heart rate variability in the frequency domain, CTP and CTP + Pimo groups showed significantly lower values of total power spectrum *vs* CONT ($P < 0.05$); LF smaller values of CTP *vs* CONT group ($P < 0.05$); larger values of LF of CTP + Pimo *vs* CTP group ($P < 0.05$); smaller values of VLF of CTP + Pimo *vs* CONT group ($P < 0.01$); lower values of LF / HF of CTP *vs* CONT group ($P < 0.05$) and higher values to CTP + Pimo *vs* CTP group ($P < 0.01$). Our study showed significant changes in HRV reduction in the time and frequency domains in CTP and CTP + Pimo groups when compared to CONT group. However, dogs treated with Pimobendan showed no significant evidence of improvement in their HRV parameters when compared to other dogs with heart failure that did not receive this drug, at least during the period proposed in this study. The changes in HRV parameters in dogs with heart failure were able to maintain even working with patients showing large breed diversity, of weights, sex and age; showing significant lower values in time and frequency domain when compared to normal dogs. The Pimobendan therapy, still no described in literature as able to influence HRV parameters in dogs with heart failure, in our study showed that animals treated with this drug showed larger sympathetic modulation, verified by LF/HF relation.

Key-words: Dogs, Heart rate variability, Pimobendan.

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS OU SÍMBOLOS

- ADR – Adrenalina
- AE – Átrio Esquerdo
- ANS – Autonomic Nervous System (Sistema Nervoso Autônomo)
- AO – Artéria Aorta
- ATP – Adenosina Trifosfato
- ATI – Angiotensina I
- ATII – Angiotensina II
- AVP – Arginina Vasopressina
- BID – a cada 12 horas
- bpm – batimentos por minuto
- cAMP – Monofosfato cíclico de adenosina
- CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
- cGMP – Monofosfato cíclico de guanosina
- CHF – Congestive Heart Failure (Insuficiência Cardíaca Congestiva)
- CISA – Centro Integrado de Saúde Animal
- CMD – Cardiomiopatia Dilatada
- CONT – Controle
- cTnI - Troponina I cardíaca
- CTP – Cardiopata Terapia Padrão
- CTP + Pimo – Cardiopata Terapia Padrão associada ao Pimobendan
- DV – Doença Valvar
- DV – Dorso Ventral
- DMVM – Doença Mixomatosa da Válvula Mitral
- DVDCM – Doença Valvar Degenerativa Crônica de Mitral
- ECA – Enzima Conversora de Angiotensina
- ECG – Eletrocardiograma
- ET - Endotelina
- EUA – Estados Unidos da América
- Fc – Frequência cardíaca
- FDA – Food and Drug Administration (Administração de Alimento e Droga)
- FE – Fração de Encurtamento
- FNT α – Fator de Necrose Tumoral alfa
- FD3 – Fosfodiesterase 3
- FD4 – Fosfodiesterase 4
- FD5 – Fosfodiesterase 5
- GDP – Guanosina Difosfato
- GTP – Guanosina Trifosfato
- HF – High Frequency (Alta Frequência)
- HRT – Heart Rate Turbulence
- HRV – Heart Rate Variability (Variabilidade da Frequência Cardíaca)
- Hz – Hertz
- H₂O - Água
- IC – Insuficiência Cardíaca
- ICC – Insuficiência Cardíaca Congestiva

- iECA – inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina
- IGF – Insulin-like growth factor (Fator de crescimento semelhante à insulina)
- ISACHC – The International Small Animal Cardiac Health Council
- IV – Instituto de Veterinária
- Kg – Kilograma
- L-Ca - Canal para cálcio tipo L
- LF – Low Frequency (Baixa Frequência)
- L/L – Látero/lateral
- mg – miligramas
- ms – milissegundos
- ms² – milissegundos ao quadrado
- NYHA – New York Heart Association
- NOR – Noradrenalina
- NNmédio – Média de todos os intervalos RR normais
- PDEs - Fosfodiesterases
- PDE3 – Fosfodiesterase 3
- PDE5 – Fosfodiesterase 5
- PDF – Pressão Diastólica Final
- PKA – Proteína quinase A
- PLB – Fosfolambam
- Pimo – Pimobendan
- pNN50 – Percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 milissegundos de seu adjacente
- PTN G – Proteína G
- RJ – Rio de Janeiro
- rMSSD – Raiz quadrada da soma das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado
- RyR - Receptor Ryanodina
- SDANN – Desvio padrão das médias dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5 minutos
- SDNN – Desvio padrão de todos os intervalos RR normais
- SDNNindex – Médias dos desvios padrões dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5 minutos
- SNA – Sistema Nervoso Autônomo
- SNAP – Sistema Nervoso Autônomo Parassimpático
- SNAS – Sistema Nervoso Autônomo Simpático
- SNS – Sistema Nervoso Simpático
- SRAA – Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
- SRD – Sem Raça Definida
- TID – a cada 08 horas
- TnC – Troponina C
- TO – Turbulence Onset
- TS – Turbulence Slope
- UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
- ULF – Ultra Low Frequency (Frequência Ultra Baixa)
- un – Unidade normalizada
- VE – Ventrículo Esquerdo

- VET -Volume de Ejeção Total
- VFC – Variabilidade da Frequência Cardíaca
- VGCC - Canal para cálcio voltagem dependente
- VLF – Very Low Frequency (Frequência Muito Baixa)
- vs – versus
- % - Percentual

LISTA DE FIGURAS, TABELAS OU QUADROS

- Quadro 1 – Classificação de Insuficiência Cardíaca de acordo com New York Heart Association.
- Quadro 2 - Classificação de Insuficiência Cardíaca de acordo com The International Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC, 1994).
- Quadro 3 – Estadiamento de Doença Valvar de acordo com “Orientações para o Diagnóstico e Tratamento da Doença Cardíaca Valvular Crônica Canina”.
- Quadro 4 – Graduação da apresentação dos sopros cardíacos em pequenos animais.
- Figura 1 – Esquema demonstrativo de acontecimento dos eventos desencadeados no organismo de cães após instalação de quadro de insuficiência cardíaca.
- Figura 2 – Esquema demonstrativo dos possíveis efeitos da ativação neurohumoral na insuficiência cardíaca congestiva.
- Figura 3 – Esquema representativo de um traçado eletrocardiográfico normal com seus respectivos componentes: ondas, complexos, segmentos e intervalos.
- Quadro 5 – Representação de algumas indicações para realização do exame de Holter e seus respectivos pacientes.
- Quadro 6 – Definição dos índices do domínio do tempo da variabilidade da frequência cardíaca.
- Tabela 1 – Apresentação das diferentes faixas de frequências utilizadas na avaliação da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência.
- Figura 4 – Esquema representativo dos efeitos produzidos pelo mecanismo de ação intracelular do fármaco Pimobendan agindo na inibição da enzima fosfodiesterase nas células musculares cardíacas.
- Figura 5 – Esquema representativo dos inibidores de fosfodiesterases e sinalização contrátil no cardiomiócito.
- Figura 6 – Um dos ambulatórios utilizados para realização do exame Holter.
- Figura 7 – Animal em período de adaptação ao ambiente antes da realização do exame Holter.
- Figura 8 – Inserção dos eletrodos cardiológicos após tricotomia e limpeza da pele para início da realização do exame Holter.
- Figura 9 – Exame Holter em curso.

- Figura 10 – Representação dos dados do exame Holter em computador obtidos através de software próprio.
- Quadro 7 – Apresentação de características dos cães saudáveis pertencentes ao grupo controle.
- Quadro 8 – Apresentação de características dos cães pertencentes ao grupo cardiopata submetidos à terapia padrão (CTP) e sua respectiva classificação de insuficiência cardíaca de acordo com NYHA e Atkins et al. (2009).
- Quadro 9 – Apresentação de características dos cães pertencentes ao grupo cardiopata submetido à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan e sua respectiva classificação de insuficiência cardíaca de acordo com NYHA e Atkins et al. (2009).
- Figura 11 – Representação do estadiamento dos sopros cardíacos dos animais cardiopatas por doença valvular inseridos nos grupos CTP e CTP + Pimo.
- Figura 12 – Apresentação gráfica dos cães dos grupos cardiopatas (CTP – cardiopatas submetidos à terapia padrão e CTP + Pimo – cardiopatas submetidos à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan), de acordo com seu enquadramento nas diferentes classes de insuficiência cardíaca de acordo com a classificação de NYHA.
- Figura 13 – Apresentação gráfica dos cães dos grupos cardiopatas (CTP – cardiopatas submetidos à terapia padrão e CTP + Pimo – cardiopatas submetidos à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan), de acordo com seu enquadramento nos diferentes estágios (A, B, C e D) de classificação de doença e insuficiência cardíaca de acordo com “Orientações para o Diagnóstico e Tratamento da Doença Cardíaca Valvular Crônica Canina”.
- Figura 14 – Valores médios das frequências cardíacas mínimas dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 15 – Valores médios das frequências cardíacas médias dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 16 – Valores médios das frequências cardíacas máximas dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 17 – Valores médios dos números de complexos QRS dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 18 – Valores médios dos números de intervalos RR normais dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 19 – Valores médios das médias de todos os intervalos RR normais dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

- Figura 20 – Valores médios dos desvios padrões de todos os intervalos RR normais dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 21 – Valores médios dos desvios padrões das médias dos intervalos RR normais medidos a cada 5 minutos dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 22 – Valores médios das médias dos desvios padrões calculados para intervalos RR normais medidos a cada 5 minutos dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 23 – Valores médios das raízes quadradas das médias da soma das diferenças de quadrados de intervalos RR normais adjacentes dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 24 – Valores médios da porcentagem de diferenças maiores que 50 ms entre intervalos RR normais adjacentes dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 25 – Valores médios das frequências cardíacas dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 26 – Valores médios das potências totais dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 27 – Valores médios das frequências muito baixas (VLF) dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 28 – Valores médios das frequências baixas (LF) dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 29 – Valores médios das frequências baixas (LF) em unidades normalizadas dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 30 – Valores médios das frequências altas (HF) dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 31 – Valores médios das frequências altas (HF) em unidade normalizada dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.
- Figura 32 – Valores médios das razões entre os componentes LF e HF dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1 Epidemiologia e Definição de Insuficiência Cardíaca	04
2.1.1 Doença Valvar Degenerativa Crônica de Mítral	06
2.1.2 Principais Sinais Clínicos de Insuficiência Cardíaca em Cães	09
2.2 Fisiopatologia Geral da Insuficiência Cardíaca	09
2.3 Mecanismos Compensatórios Ativados pela Insuficiência Cardíaca Crônica e Alterações Autonômicas	12
2.4 Análise Espectral: Método e Utilização Clínica	14
2.4.1 Eletrocardiograma, exame Holter e suas indicações	14
2.4.2 Principais parâmetros estudados no exame Holter	16
2.4.3 Limitações do exame Holter	
2.4.4 Variabilidade da frequência cardíaca (VFC)	17
2.4.4.1 VFC no domínio do tempo	19
2.4.4.2 VFC no domínio da frequência	20
2.4.5 VFC e insuficiência cardíaca	21
2.5 Terapia Farmacológica Convencional e uso do Fármaco Pimobendan na Insuficiência Cardíaca em Cães	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 Animais Estudados e Grupos Experimentais	28
3.2 Exames realizados	
3.2.1 Histórico, anamnese e exame clínico dos animais	29
3.2.2 Protocolo de avaliação do exame Holter	29
3.2.3 Parâmetros avaliados no exame Holter	31
3.3 Terapia Farmacológica Aplicada aos Grupos	32
3.4 Análise Estatística	32
4. RESULTADOS	33
4.1 Animais Estudados	33
4.2 Exame Clínico e Classificação da Insuficiência Cardíaca nos Cães Cardiopatas	34
4.2.1 Limitações experimentais	37
4.3 Exame Holter	38
4.3.1 Frequência cardíaca mínima	38
4.3.2 Frequência cardíaca média	39
4.3.3 Frequência cardíaca máxima	39
4.3.4 N° QRS	40
4.3.5 VFC no domínio do tempo	41
4.3.5.1 Número dos intervalos RR Normais (NN's)	41
4.3.5.2 Média de todos os intervalos RR normais (NN médio) (ms)	41

4.3.5.3 Desvios padrões de todos os intervalos RR normais (SDNN) (ms)	42
4.3.5.4 Desvios padrões das médias dos intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos (SDANN) (ms)	43
4.3.5.5 Médias dos desvios padrões calculados para intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos SDNNIDX (ms)	44
4.3.5.6 Raízes quadradas das médias da soma das diferenças de quadrados de intervalos RR normais adjacentes do exame todo (RMSSD) (ms)	45
4.3.5.7 Porcentagem de diferenças maiores que 50 ms entre intervalos RR normais adjacentes do exame todo (pNN50)	45
4.3.6 VFC no domínio da frequência	46
4.3.6.1 Fc (bpm)	46
4.3.6.2 Potência total (ms ²)	47
4.3.6.3 Potência VLF (ms ²)	48
4.3.6.4 Potência LF (ms ²)	48
4.3.6.4.1 Potência LF (un)	49
4.3.6.5 Potência HF (ms ²)	49
4.3.6.5.1 Potência HF (un)	50
4.3.6.6 LF/HF	51
5. DISCUSSÃO	52
6. CONCLUSÕES	56
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	58
ANEXOS	66
A- Valores médios das frequências cardíacas e números de complexos QRS apresentados pelos animais dos grupos CONT (Controle), CTP (Cardiopata submetido à terapia padrão) e CTP + Pimo (Cardiopata submetido à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan) obtidos através do exame Holter	66
B- Valores médios da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo apresentados pelos animais dos grupos Controle (CONT); Cardiopatas submetidos à terapia padrão (CTP) e Cardiopatas submetidos à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan (CTP + Pimo) (* P < 0,05 vs CONT)	66

C- Valores médios da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência apresentados pelos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo (*P < 0,05 vs CONT; # P < 0,05 vs CTP)	67
D- Autorização de Consentimento Livre e Esclarecido dos Responsáveis pelos Animais	67
<ul style="list-style-type: none">• Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais – Instituto de Veterinária – UFRRJ, N° 9932141015	68

1 INTRODUÇÃO

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) constitui um método simples e não invasivo capaz de aferir a modulação do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) sobre o coração, permitindo dessa maneira, determinar possíveis alterações simpátovagais.

A variabilidade da frequência sinusal é resultado de variações no estímulo autonômico ao nodo sinusal e modificações nessa variabilidade podem ser usadas como marcadores de tal estímulo para o órgão. Portanto, a VFC representa uma forma de aferição da modulação autonômica, tornando-se amplamente empregada na medicina cardiovascular humana.

Esta poderosa ferramenta, capaz de prever risco de mortalidade, comprovou sua eficácia em diferentes afecções cardíacas, além de ter possibilitado o monitoramento não invasivo da eficácia terapêutica empregada. Em cães, sua utilização experimental é bem documentada, porém, ainda pouco explorada na rotina clínica veterinária.

A análise do domínio de tempo e frequência são tipos de processamento de sinal utilizados para investigar a variabilidade da frequência cardíaca, ambos dependentes da eficácia das medidas dos intervalos RR dos traçados eletrocardiográficos. A primeira inclui cálculos das medidas dos intervalos RR, enquanto a segunda inclui cálculos da frequência de transformações do intervalo RR, como a análise espectral.

De uma maneira geral, o aumento da modulação simpática ou diminuição da modulação parassimpática sobre o coração é refletido por diminuição dos índices da variabilidade da frequência cardíaca. Assim, o estudo da VFC torna-se útil na determinação da morbidade e/ou risco de mortalidade em cães portadores de insuficiência cardíaca, pois estes pacientes naturalmente apresentam uma exacerbação da influência simpática sobre seus corações, o que determina um pior prognóstico clínico.

Dentre as inúmeras estratégias terapêuticas utilizadas com o intuito de melhorar o estado clínico de cães portadores de cardiopatias e aumentar assim a sua sobrevivência, tem se destacado ultimamente o uso do fármaco Pimobendan. Trata-se de uma substância com efeitos inotrópico positivo e vasodilatador, capaz de promover melhoras significativas em parâmetros fisiológicos e na qualidade de vida desses pacientes, porém, ainda não encontrado na literatura científica a sua possível participação em influenciar na modulação do sistema nervoso autônomo sobre o coração desses pacientes.

Utilizando-se animais da espécie *Canis familiaris*, foram testadas nesse estudo as hipóteses: cães portadores de doença valvar podem ter alterados os parâmetros de VFC e o tratamento farmacológico com Pimobendan na insuficiência cardíaca desses pacientes pode ser capaz de influenciar diretamente na alteração dos valores da variabilidade da frequência cardíaca quando comparados a animais não tratados com este tipo de droga.

Este estudo tem relevância clínica pelo fato de poder estimular outras pesquisas no futuro com cães portadores de insuficiência cardíaca, que busquem estabelecer a importância da VFC no diagnóstico, prognóstico e tratamento das cardiopatias caninas.

Apesar das alterações anatômicas e hemodinâmicas características encontradas em cães portadores de insuficiência cardíaca por doença valvar já serem amplamente descritas na literatura científica, pouco ainda se conhece sobre as alterações no balanço autonômico cardíaco desses pacientes. Considerando o valor do conhecimento das alterações da VFC em seres humanos, tanto para o diagnóstico como para o prognóstico das doenças cardíacas, este projeto se justifica pela pouca atenção que é dada no âmbito da Medicina Veterinária a esta poderosa ferramenta.

A disseminação da interpretação e utilização como ferramenta clínica e diagnóstica do estudo do balanço autonômico pela variabilidade da frequência cardíaca em cães cardiopatas é uma das mais importantes justificativas deste estudo, tornando-se relevante

não só por buscar maiores esclarecimentos da técnica, como também incentivar seu uso na rotina diagnóstica da cardiologia médica veterinária de pequenos animais.

Por fim, porém não menos importante, procuramos investigar o papel da terapia farmacológica na VFC de cães cardiopatas com um agente relativamente novo na Clínica Veterinária e que vem promovendo melhoras significativas no estado clínico desses pacientes, o Pimobendan. A utilização do estudo da VFC em um subgrupo de animais tratados com o referido fármaco deverá, além de contribuir para acrescentar mecanismos de ação adicionais a esta droga, incentivar o Médico Veterinário a utilizar o estudo da VFC para a elucidação de mecanismos de ação e o acompanhamento da eficácia terapêutica de outros fármacos.

Objetivos:

a) Gerais

- Estudar o balanço simpátovagal por meio da análise da variabilidade da frequência cardíaca obtida pelo método de Holter em cães adultos portadores de insuficiência cardíaca por doença valvar degenerativa crônica de mitral (DVDCM).
- Verificar os efeitos do Pimobendan sobre as possíveis alterações no balanço simpátovagal de cães portadores de DVDCM por meio da análise da variabilidade da frequência cardíaca obtida pelo método de Holter.

b) Específicos:

- Estudar possíveis alterações autonômicas sobre o coração de cães portadores de DVDCM por meio da avaliação da variabilidade da frequência cardíaca.
- Comparar o balanço autonômico cardíaco entre cães sadios e portadores de insuficiência cardíaca por DVDCM.
- Investigar o papel do tratamento com Pimobendan nas alterações do balanço autonômico em cães portadores de insuficiência cardíaca por DVDCM.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epidemiologia e Definição de Insuficiência Cardíaca

De acordo com Spinetti et al. (2010), a síndrome de insuficiência cardíaca se define como a incapacidade do sistema cardiovascular de manter um débito cardíaco de acordo com as necessidades metabólicas do organismo, se caracterizando pelo aparecimento gradual de um conjunto de sintomas e sinais secundários à presença de alterações estruturais e funcionais do sistema cardiovascular.

Cambão e Moreira (2009), relatam que a insuficiência cardíaca caracteriza-se por uma redução do débito cardíaco e um aumento da pressão venosa, acompanhadas de alterações moleculares que, por sua vez, conduzem a uma deterioração progressiva do coração e morte prematura dos cardiomiócitos.

Trata-se de uma condição em que o dano estrutural difuso das miofibrilas (necrose, apoptose ou inflamação) ou uma sobrecarga hemodinâmica excessiva, provoca diminuição da força contrátil do coração e conseqüentemente aumentam os volumes ventriculares com diminuição do débito cardíaco (BOO et al. 2007).

A insuficiência do miocárdio está relacionada com a diminuição de sua contratilidade. Pode estar associada com doença miocárdica primária (cardiomiopatia dilatada idiopática) ou doença miocárdica secundária (doença cardíaca valvar ou congênita, tirotoxicose, deficiência de taurina, doença inflamatório-infecciosa e infiltrativa) (FRANCIS et al. 2001).

Camacho e Pereira (1999) relatam que as principais cardiopatias em cães e gatos que podem levar à insuficiência cardíaca são: miocardiopatias dilatada, hipertrófica e restritiva; miocardites; endocardites e endocardioses; parasitoses cardíacas; efusões pericárdicas; arritmias; tumores e cardiopatias congênitas.

De acordo com Ettinger e Feldman (2004), o coração possui apenas duas formas de se tornar insuficiente: não podendo bombear sangue para a aorta ou artéria pulmonar o suficiente para manter a pressão arterial (insuficiência cardíaca de baixo débito) ou não podendo esvaziar de forma adequada os reservatórios venosos (insuficiência cardíaca congestiva).

A insuficiência cardíaca pode ser clinicamente identificada pelos sinais de baixo débito cardíaco (depressão, letargia, hipertensão) ou por congestão (ascite, efusão pleural, edema pulmonar). Pode também ser classificada como direita, esquerda ou bilateral (NAZARETH, 2006).

A insuficiência cardíaca apresenta-se como uma síndrome clínica na qual uma enfermidade cardíaca reduz o débito cardíaco, aumenta a pressão venosa e está acompanhada de anormalidades moleculares e morte celular miocárdica que causam uma deterioração progressiva do coração (MELO et al. 2014).

A insuficiência cardíaca em caninos pode ser desencadeada por muitas etiologias e em conseqüência, não se pode definir em um simples termo. Há etiologias que levam a uma sobrecarga mecânica de volume ou pressão sistólica sobre o coração ou fatores que geram diminuição da contratilidade miocárdica ou interferem com o enchimento ventricular ou simplesmente condições que aumentam as necessidades metabólicas (RAMIREZ E MARTINEZ, 2011).

Como doença cardíaca não necessariamente trata-se de um estado de insuficiência cardíaca, alguns sistemas de classificação do estado de insuficiência cardíaca foram criados com o intuito de facilitar a avaliação desses pacientes. Entre estes, destacam-se principalmente: a NYHA (New York Heart Association, 1994) (ATKINS et al. 2009) (Quadro 1), a classificação The International Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC, 1994) (MELO et al. 2014) (Quadro 2) e mais recentemente, as Orientações para Diagnóstico e Tratamento de Doença Cardíaca Valvular Crônica Canina (ATKINS et al. 2009) (Quadro 3).

Quadro 1. Classificação de Insuficiência Cardíaca de acordo com New York Heart Association.

Fluxograma de Classificação de Insuficiência Cardíaca – New York Heart Association (1994)	
CLASSE DE IC	SINAIS CLÍNICOS
Classe 1	Evidências clínicas de doença cardíaca. Sem sinais de IC. Tolerância ao exercício normal, exceto com exercício intenso.
Classe 2	Sinais de IC em exercício/excitação Normal em repouso. Com ou sem evidências radiográficas de cardiomegalia
Classe 3	Confortável em repouso, mas com exacerbação de sinais de IC com exercício mínimo. Evidências radiográficas de cardiomegalia
Classe 4	Sinais graves de IC em repouso Compensações posturais (ortopnéia, etc).

Fonte: (ATKINS et al. 2009).

Quadro 2. Classificação de Insuficiência Cardíaca de acordo com The International Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC, 1994).

Fluxograma de Classificação de Insuficiência Cardíaca - The International Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC, 1994).		
Classe IC	Sinais Clínicos	
Classe I	<ul style="list-style-type: none"> Assintomático Sinais de IC no exame clínico (ex: sopros) 	IA – Dilatação cardíaca ausente ou mínima
		IB – Dilatação cardíaca leve
Classe II	<ul style="list-style-type: none"> IC leve a moderada 	Sinais de IC: intolerância ao exercício, tosse, dispnéia, ascite.
Classe III	<ul style="list-style-type: none"> IC avançada Dispnéia marcada e grave, ascite. 	IIIA – Possível tratamento em ambulatório
		IIIB – Hospitalização obrigatória, edema pulmonar grave, derrame pleural.

Fonte: (MELO et al. 2014).

Um novo sistema de classificação mais objetivo que classifica pacientes no curso das doenças cardíacas por DVDCM tem sido desenvolvido, e este esquema foi usado pelo painel de recomendações consensuais. O objetivo foi relacionar a severidade dos sinais para tratamentos apropriados em cada estágio da enfermidade. Na formulação dessas orientações, o painel consensual foi adaptado do Sistema de Classificação para o tratamento de doença e insuficiência cardíaca em pacientes humanos para o manejo da Doença Cardíaca Valvular Crônica (American College of Cardiology/American Heart Association). Trata-se de um

sistema de classificação utilizado para complementar, não substituir os sistemas de classificação funcionais. Este novo sistema descreve quatro estágios básicos da doença cardíaca e insuficiência (Quadro 3), (ATKINS et al. 2009), além disso, orienta para o diagnóstico e tratamento da doença valvular crônica em cães.

Quadro 3. Estadiamento de Doença Valvar de acordo com “Orientações para o Diagnóstico e Tratamento da Doença Cardíaca Valvular Crônica Canina”.

Fluxograma dos quatro estágios básicos de doença cardíaca e insuficiência.	
Estágio	Sinais Clínicos
Estágio A	<ul style="list-style-type: none"> • Pacientes com alto risco de desenvolver doença cardíaca, mas que atualmente não possuem desordens estruturais cardíacas identificáveis (ex: Cavalier King Charles Spaniel sem murmúrio cardíaco).
Estágio B	<ul style="list-style-type: none"> • Pacientes com doença estrutural cardíaca (murmúrio de regurgitação mitral presente), mas nunca desenvolveram sinais clínicos causados por insuficiência cardíaca.
	B1 – Pacientes assintomáticos que não possuem evidências radiográficas ou ecocardiográficas de remodelamento cardíaco em resposta a doença valvular.
	B2 – Pacientes assintomáticos que possuem regurgitação valvar hemodinamicamente significativa.
Estágio C	<ul style="list-style-type: none"> • Pacientes com passado ou sinais clínicos atuais de insuficiência cardíaca associada com doença cardíaca estrutural.
Estágio D	<ul style="list-style-type: none"> • Pacientes com estágio final da doença e sinais clínicos de insuficiência cardíaca causados por Doença Cardíaca Valvar Crônica que são refratários à “terapia padrão”. Pacientes que requerem estratégias terapêuticas especializadas ou avançadas para permanecerem confortáveis clinicamente com suas doenças.

Fonte: (ATKINS et al. 2009).

2.1.1 Doença valvar degenerativa crônica de mitral (DVDCM)

De acordo com Muzzi et al. (2009), a degeneração mixomatosa crônica da válvula mitral trata-se da cardiopatia valvar adquirida mais encontrada em cães. Geralmente acomete isoladamente a válvula mitral em 62% dos casos ou em associação com a válvula tricúspide em cerca de 33% dos casos.

Atkins et al. (2009), relatam que a Doença Cardíaca Valvar Crônica afeta mais comumente a válvula atrioventricular esquerda, embora em aproximadamente 30 % dos casos a válvula atrioventricular direita também está envolvida. A prevalência aumenta marcadamente com a idade em raças pequenas (85 % dos pacientes mostrando alguma evidência de lesão depois dos treze anos de idade), mas a presença de lesão patológica não necessariamente indica que um cão desenvolverá sinais clínicos de insuficiência cardíaca.

A doença é aproximadamente 1,5 vezes mais comum em machos que em fêmeas, com prevalência preferencial em cães menores que 20 Kg. Em raças pequenas de cães, a doença geralmente é lenta, mas um tanto imprevisível progressiva, com a maioria dos cães demonstrando o início de um murmúrio reconhecível de regurgitação valvar mitral anos antes de iniciar sintomas clínicos de insuficiência cardíaca. Quando cães de raças grandes são

afetados, a progressão da doença aparenta ser mais rápida que a observada em raças pequenas (BUCHANAN, 2004; BORGARELLI et al. 2004).

Os sinais clínicos são decorrentes da disfunção do complexo valvar mitral, sendo a tosse o sinal clínico mais comum citada pelos proprietários e, geralmente seguidos de dispnéia, taquipnéia, ortopnéia, perda de apetite e letargia. Nos casos mais graves são encontrados também cianose, fadiga, tempo de perfusão capilar acima de dois segundos e mucosas pálidas (MUZZI et al. 2009).

Ao exame físico, o sopro cardíaco constitui o achado clínico mais precoce, sendo mais facilmente auscultado no ápice cardíaco esquerdo. Os sopros cardíacos são descritos segundo sua ocorrência dentro do ciclo cardíaco (sistólico ou diastólico, ou porções destes), intensidade, ponto de máxima intensidade no precórdio, irradiação sobre a parede torácica, qualidade e intensidade. Sopros sistólicos podem ocorrer no início (protossistólico), no meio (mesossistólico), ou no final (telessistólico), ou por toda a sístole (holossistólico). Os sopros diastólicos geralmente ocorrem no início da diástole (protodiastólico) ou por toda a diástole (holodiastólico) (MUZZI et al. 2009).

A intensidade de um sopro é arbitrariamente graduada em uma escala de I a VI (Quadro 4). Insuficiências de válvulas atrioventriculares e defeitos de septo interventricular comumente causam sopros holossistólicos devido ao movimento turbulento de sangue que ocorre na sístole ventricular (NELSON E COUTO, 2010).

De acordo com Chamas et al. (2011), a degeneração valvar ocasiona distorção dos folhetos com conseqüente regurgitação sanguínea pelo orifício valvar mitral. Com a progressão das lesões, a porção regurgitante sistólica ventricular esquerda aumenta, determinando progressiva dilatação de átrio esquerdo e posteriormente também de ventrículo esquerdo. O aumento da fração regurgitante de sangue para o átrio esquerdo acarreta em diminuição do volume sistólico ventricular e débito cardíaco, com conseqüente ativação de diversos mecanismos compensatórios cardíacos e não cardíacos.

A doença é caracterizada por um murmúrio sistólico na área mitral, o qual aumenta em intensidade com a progressão da doença, irradiando para o lado direito e áreas pulmonares. Murmúrios podem fornecer informações valiosas a respeito da severidade da doença. A intensidade do murmúrio correlaciona com a severidade da doença valvar mixomatosa de mitral e a classe de insuficiência cardíaca (PETRIC, 2015).

A causa da Doença Cardíaca Valvular Crônica é desconhecida, mas a doença aparenta ter um componente herdado em algumas raças estudadas. É caracterizada por mudanças nos constituintes celulares bem como na matriz intercelular dos aparatos valvares (incluindo folhetos valvares e cordoalhas tendíneas). Estas mudanças envolvem o conteúdo colágeno e o alinhamento das fibrilas colágenas dentro da valva. Mudanças na espessura de células endoteliais e subendoteliais também podem ocorrer, embora cães afetados não aparentam estar em risco aumentado para tromboembolismo arterial ou endocardite infecciosa. O prolapso mitral é a complicação comum de degeneração valvar mixomatosa e representa uma característica proeminente de doença cardíaca valvar crônica em algumas raças. Deformação progressiva da estrutura valvar eventualmente previne coaptação efetiva e causa regurgitação (vazamento valvar). A regurgitação valvar progressiva aumenta o trabalho cardíaco, levando a remodelamento ventricular (hipertrofia excêntrica e mudanças na matriz intercelular) e disfunção ventricular (ATKINS et al. 2009).

Melo et al. (2014), relatam que a etiologia da doença cardíaca valvular até o momento não está totalmente clara, existindo algumas teorias a respeito, como: presença de fator poligênico hereditário baseados principalmente em estudos realizados em cães das raças Dashchund e Cavalier King Charles Spaniel e anormalidade bioquímica básica na composição do colágeno e este defeito responde ao que se conhece como “hipótese da resposta à injúria”.

Ainda de acordo com Atkins et al. (2009), números anormais de tipos de receptores mitogênicos (qualquer dos subtipos de serotonina, endotelina ou receptores de angiotensina) ou membranas de células de fibroblastos nas valvas de cães afetados podem desempenhar um papel na fisiopatologia das lesões valvulares. Metabólitos sistêmicos ou locais, mediadores inflamatórios ou neurohumorais (catecolaminas endógenas e citocinas inflamatórias) também podem influenciar a progressão da lesão valvar ou subsequente remodelamento miocárdico e disfunção ventricular que acompanha de longa data, a regurgitação valvular hemodinâmica significativa.

Burchell e Shoeman (2014), relatam a importância do papel dos mediadores inflamatórios na patogênese da doença valvular. Ao longo da vida útil da válvula mitral ela sofre tensão de cisalhamento como resultado de repetidas aberturas e fechamentos. O desgaste seguido e o dilaceramento estimularão processos reparativos para restaurar a integridade da válvula, ou para preservar o funcionamento da válvula por alterar a estrutura. Todos esses processos são controlados por mediadores inflamatórios, quimiocinas e vias de sinalização moleculares. Tem sido observado que a válvula mitral sofre mudanças na matriz celular à medida que envelhece, incluindo uma diminuição em seu número de células endoteliais, ativação aumentada de células intersticiais valvares, inervação diminuída e diminuição de elastina. Estas mudanças aumentam a rigidez e a espessura da valva. Há uma considerável sobreposição entre os processos moleculares de envelhecimento e doença valvar de mitral, mas as lesões da doença valvar degenerativa crônica de mitral são consideravelmente mais severas e finalmente levam a insuficiência da valva. Portanto, existe lógica intuitiva que a sinalização celular aberrante pode estar envolvida na patogênese da DVDCM. Alternativamente, genes que regulam o crescimento podem também ser responsáveis pelo desenvolvimento cardíaco e, portanto, o recrutamento genético para cães de raças pequenas pode também afetar o desenvolvimento cardíaco. IGF tem sido implicado no desenvolvimento cardíaco de cães e pessoas e considerado também importante em termos de regulação de crescimento. Especula-se que a mutação de IGF pode ser fator principal para a patogênese da DVDCM, dado sua consistente presença dentro do genoma de cães pequenos e também pelo fato de que ele é conhecido por regular o desenvolvimento cardíaco.

De acordo com Petric (2015), em cães geneticamente mais sobrecarregados, a doença progride mais rapidamente e em uma idade menor. O curso da doença pode ter pequenas rotas típicas de progressão: 1) pode iniciar em uma idade avançada, progredir lentamente e nunca terminar em insuficiência cardíaca; 2) progredir lentamente e então de repente depois progredir para uma ruptura cordoalha e terminar em insuficiência cardíaca aguda; 3) progredir lentamente e eventualmente terminar em insuficiência cardíaca; 4) pode progredir subclínicamente e terminar em morte súbita. Uma razão para morte súbita é a ruptura atrial esquerda, a qual ocorre raramente. Mais comumente, cães com doença valvar mixomatosa mitral morrem ou são eutanaziados devido uma progressiva insuficiência cardíaca e edema pulmonar ou por piora significativa dos sinais clínicos. A média de sobrevivência de cães com moderada a severa insuficiência cardíaca congestiva é cerca de trinta e três e nove meses respectivamente. Ainda de acordo com este autor, cães que recebem Pimobendan ao invés de benazepril associado a diuréticos, possuem tempos de sobrevivência muito mais significativos. A qualidade de vida apresenta-se similar, mas os que recebem Pimobendan apresentam menor tamanho cardíaco e menor retenção de água.

Quadro 4. Graduação da apresentação dos sopros cardíacos em pequenos animais.

GRAU	SOPRO
I	Sopro muito brando; audível somente em ambientes silenciosos após minutos de auscultação.
II	Sopro brando mais facilmente auscultável.
III	Sopro de moderada intensidade.
IV	Sopro alto, mas não acompanhado de um frêmito precordial.
V	Sopro alto com um frêmito precordial palpável.
VI	Sopro bem alto que pode ser percebido com o estetoscópio levemente afastado da parede torácica; acompanhado de um frêmito precordial.

Fonte: (NELSON e COUTO, 2010).

2.1.2 Principais sinais clínicos da insuficiência cardíaca em cães

Por ser uma síndrome crônica e progressiva, o desenvolvimento de sinais clínicos é inevitável. Contudo, a sintomatologia associada à insuficiência cardíaca não é obrigatoriamente o resultado de uma súbita descompensação da situação cardíaca ou de uma progressão da doença em causa. Em muitos pacientes a causa precipitante dos sinais clínicos pode nem estar associada diretamente à função cardíaca. Complicações extra cardíacas responsáveis pelo aumento do trabalho de um coração já fragilizado, tal como condições que levem a um aumento da circulação sanguínea (ex: anemia, febre), aumento do consumo de oxigênio pelos cardiomiócitos, aumento da atividade do Sistema Nervoso Autônomo Simpático (SNAS,) hipertensão arterial sistêmica, estresse físico, ambiental ou emocional; doenças secundária, como a insuficiência renal crônica podem levar à descompensação e ao aparecimento dos sinais clínicos (MORAIS, 2005).

Os sinais clínicos da insuficiência cardíaca em pequenos animais podem ser divididos em sinais de insuficiência cardíaca congestiva direita ou esquerda e insuficiência cardíaca de baixo débito cardíaco (NELSON E COUTO, 2010).

De acordo com Camacho e Pereira (1999) e Nazareth (2006), a insuficiência cardíaca congestiva esquerda pode apresentar sinais respiratórios como tosse, taquipnéia, taquicardia e expectoração espumosa, enquanto a direita causa congestão venosa da circulação sistêmica, hepatomegalia, esplenomegalia, efusões em cavidades corpóreas, edemas de membros, caquexia e ganho de peso por retenção de água. A insuficiência cardíaca bilateral ou generalizada apresenta um agravamento na sintomatologia esquerda e direita, tais como fraqueza e fadiga (intolerância ao exercício), perda de peso, caquexia cardíaca, dispnéia de esforço, taquiarritmia e perfusão periférica deficiente com aumento no tempo de preenchimento capilar, membranas pálidas, cianose e extremidades frias.

Os cães com insuficiência cardíaca geralmente apresentam-se com tosse, dispnéia, intolerância ao exercício, aumento do volume abdominal ou síncope (MORAIS, 2005).

2.2 Fisiopatologia Geral da Insuficiência Cardíaca

A função de bomba cardíaca pode ser comprometida por dois mecanismos: redução da ejeção do sangue sob pressão para a aorta e tronco pulmonar, por depressão da contractilidade miocárdica (diminuição do inotropismo) e esvaziamento inadequado do reservatório venoso que transporta sangue para o coração ou por comprometimento do enchimento e relaxamento ventriculares (diminuição da lusitropia). Assim, a insuficiência cardíaca pode ser classificada, respectivamente, em sistólica e diastólica (Cambão e Moreira, 2009).

À medida que se dilata a cavidade ventricular, aumenta o volume residual sistólico e isto faz que se necessite de uma maior pressão de enchimento ventricular, o que por sua vez induz uma maior tensão na parede e ocasiona maior dilatação. A hipertrofia que segue a este estímulo alivia a tensão na parede e melhora a função ventricular. A instalação de insuficiência cardíaca induz a ativação de uma série de mecanismos compensadores, que apesar de terem por objetivo promover sobrevivência do organismo, também geram uma série de alterações (BOO et al. 2007).

A insuficiência do miocárdio causa disfunção sistólica e a ativação de mecanismos compensatórios, aumentando o retorno venoso para o coração. Os ventrículos devem obter um grande volume diastólico final a fim de manter o volume de ejeção total (VET) relativamente normal. Assim, com a deterioração da função do miocárdio (notado pela diminuição das frações de encurtamento e de ejeção observadas no exame ecocardiográfico), os ventrículos aumentam progressivamente (dilatação), de modo que o VET precisa ser mantido, ainda que a porcentagem de sangue a ser ejetada (fração de ejeção) esteja diminuindo. Uma grave dilatação do ventrículo esquerdo causa deformação e dilatação do anel da válvula mitral, resultando em regurgitação mitral e promovendo sobrecarga de volume nesse ventrículo. Uma vez que o limite compensatório da hipertrofia por sobrecarga de volume é alcançado, ocorrerá o aumento do volume sanguíneo (associado com retenção de sódio e água) e do retorno venoso, causando aumento da pré-carga cardíaca, caracterizando o quadro de ICC (insuficiência cardíaca congestiva). Nesse caso, haverá acúmulo de fluidos nos tecidos, com aumento da pressão hidrostática, elevações das pressões intra-atrial e intraventricular (FRANCIS et al. 2001).

A função contrátil diminuída na insuficiência cardíaca pode ser primária (cardiomiopatia dilatada idiopática) ou secundária a aumento crônico de volume sanguíneo, por pressões elevadas cronicamente, por taquicardias sustentadas, por toxicidade a fármacos e miocardites. As pressões elevadas nas câmaras cardíacas surgem quando os ventrículos têm de gerar maior pressão sistólica que geralmente o fazem para impulsionar o sangue. Geralmente os ventrículos desenvolvem hipertrofia concêntrica de suas paredes aumentando espessura e contratilidade destas. Contudo, apenas as células miocárdicas sofrem este processo hipertrófico, enquanto a vasculatura coronária não aumenta proporcionalmente, não podendo responder às exigências dos cardiomiócitos, potencializando o risco de arritmias e isquemia no órgão (KITTLESON, 1998).

Alteração de aumento de volume na insuficiência cardíaca ocorre quando a pré-carga ventricular é maior que a sua capacidade de ejeção, resultando em dilatação ventricular, com aumento do estresse de sua parede, levando a hipertrofia excêntrica dos cardiomiócitos (BRAUNWALD, 1992).

A complacência ventricular está relacionada com a capacidade de relaxamento do ventrículo, entendendo-se como a alteração de volume do ventrículo para uma determinada alteração na pressão. Deste modo, quanto menor o volume da câmara ventricular para uma determinada pressão de enchimento, menor sua complacência e menor volume de sangue recebido, o que determina um menor débito cardíaco (MORAIS, 2005).

Em relação ao ritmo cardíaco, as bradiarritmias ou taquiarritmias graves podem ocasionar diminuição do débito cardíaco e conseqüentemente ao aparecimento de sinais clínicos de insuficiência cardíaca. Os estados hipermetabólicos e hiperinéticos geralmente condicionam frequências cardíacas elevadas que quando de maneira crônica, levam conseqüentemente ao desgaste das respostas homeostáticas compensatórias e à dilatação ou hipertrofia do coração, podendo então desenvolver sinais de insuficiência cardíaca (TILLEY et al. 2007).

Ainda de acordo com Tilley et al. (2007), insuficiência cardíaca congestiva é o acúmulo de fluidos nos tecidos, associado com o aumento na pressão hidrostática e elevações nas pressões intraatrial e intraventricular. Insuficiência de baixo débito pode ser definida como

baixo débito cardíaco, resultando na diminuição da perfusão tecidual e inadequada oxigenação. Geralmente este termo é usado para descrever quadros clínicos em que o débito cardíaco está dramaticamente reduzido no estágio final das disfunções sistólicas. Insuficiência cardíaca direita pode ocorrer quando o átrio ou ventrículo direito desenvolvem aumento na pressão, associada com insuficiência valvular, doença pericárdica, obstrução do fluxo sanguíneo ou hipertensão pulmonar. Sobrecarga de pressão e volume do ventrículo direito pode causar congestão hepática, acompanhada por ascite, algumas vezes efusão pleural e raramente edema subcutâneo. Estas doenças podem reduzir o fluxo sanguíneo da circulação pulmonar e coração esquerdo, reduzindo o volume de ejeção e o débito cardíaco e, possivelmente, sinais de insuficiência de baixo débito. A insuficiência cardíaca esquerda ocorre quando o lado esquerdo do coração desenvolve elevada pressão associada, mais comumente, com insuficiência valvular, diminuição na contratilidade ou disfunção diastólica. Elevações na pressão ventricular esquerda são transmitidas para o átrio esquerdo, veias pulmonares e leito vascular, com a possibilidade de acúmulo de líquidos no espaço intersticial e alveolar (edema pulmonar). Hipertensão venosa pulmonar cria uma obstrução funcional, restringindo a capacidade dos vasos linfáticos em manter uma quantidade normal de fluidos no espaço pleural.

Packer (1992) cita que a insuficiência cardíaca desenvolve-se não quando o coração é afetado, mas quando os mecanismos compensatórios hemodinâmicos e neuro-humorais existentes são extenuados.

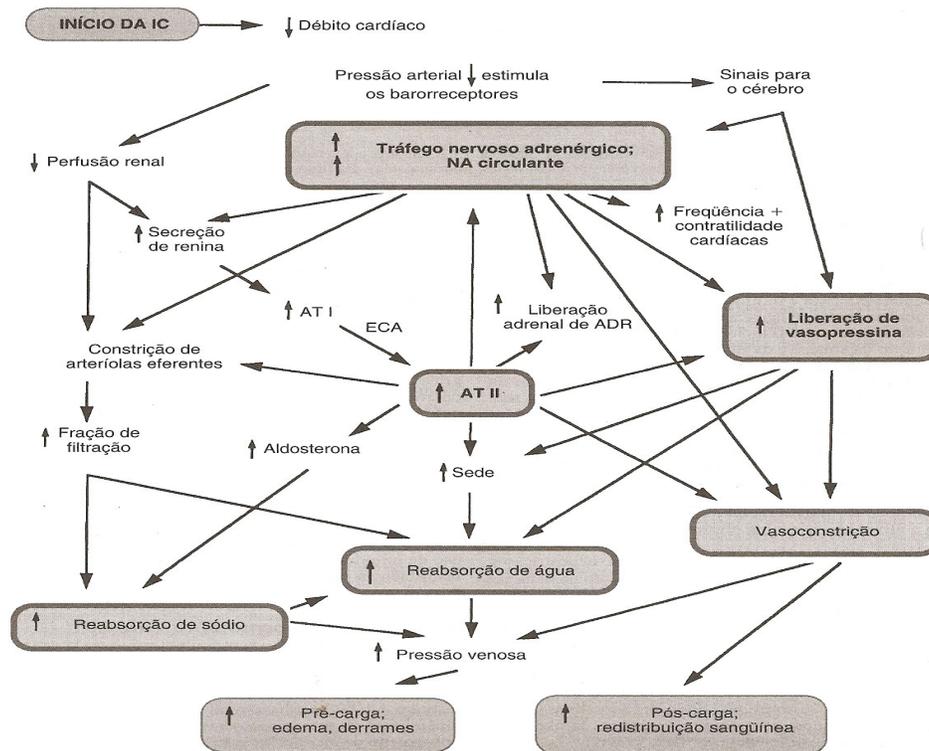


Figura 1. Esquema demonstrativo de acontecimento dos eventos desencadeados no organismo de cães após instalação de quadro de insuficiência cardíaca. (NELSON e COUTO, 2010).

2.3 Mecanismos Compensatórios Ativados pela Insuficiência Cardíaca Crônica e Alterações Autonômicas:

De acordo com Corrêa et al. (2008), um dos marcadores mais expressivos de insuficiência cardíaca é a exacerbação neurohumoral instalada. Pacientes com insuficiência cardíaca apresentam hiperativação do sistema nervoso autônomo simpático, aumento da atividade do sistema renina angiotensina aldosterona e elevados níveis de vasopressina. Essas alterações que, no início da disfunção ventricular, compensam o baixo débito cardíaco e garantem pressão de perfusão sanguínea adequada, em longo prazo, agravam a disfunção ventricular, contribuindo para a progressão da insuficiência cardíaca. Existem evidências que alterações nos controles barorreflexo arterial, reflexo cardiopulmonar, quimiorreflexo central e periférico, e sistema nervoso central contribuem, de sobremaneira para essa exacerbação.

De acordo com Cambão e Moreira (2009) e Aronow (2006), o organismo dispõe de mecanismos compensatórios para atenuar o deficiente bombeamento de sangue, que no seu conjunto definem uma resposta neurohumoral. Esta resposta compreende três elementos fundamentais: a) a reação hemodinâmica de defesa (visa manter a pressão de perfusão de órgãos nobres e o débito cardíaco, através da retenção hidrossalina, vasoconstrição arteriolar e aumento da estimulação cardíaca); b) a resposta inflamatória (o coração e outros órgãos parecem atuar como se estivessem reagindo a agentes estranhos, destacando-se o papel das citocinas pró-inflamatórias, seja na circulação sistêmica ou localmente no miocárdio; dos estresse oxidativo e dos radicais livres de oxigênio); c) a resposta hipertrófica com remodelagem ventricular, a qual inclui alterações da biologia e estrutura dos cardiomiócitos e na geometria da câmara ventricular. Os mecanismos neurohumorais se classificam em “reguladores” (com propriedades vasoconstrictoras, antinatriuréticas, inotrópicas e proliferativas) e “contrarreguladores” (efeitos diametralmente opostos). Tornam-se deletérios em longo prazo, contribuindo para a instalação e cronicidade da insuficiência cardíaca (Figura 2).

Ainda de acordo com Corrêa et al. (2008), o estado de insuficiência cardíaca é, portanto, capaz de provocar redução da sensibilidade barorreflexa, exercendo um importante papel nesta alteração autonômica, o aumento da atividade da bomba de $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, níveis elevados de angiotensina central e espécies reativas de oxigênio. Além disso, a IC é capaz também de alterar significativamente o controle quimiorreflexo, onde nestes pacientes, a estimulação dos quimiorreceptores centrais provoca um aumento exagerado na ventilação pulmonar e na atividade autonômica simpática. Respostas semelhantes ocorrem com a estimulação de quimiorreceptores periféricos. Relacionam também essa hipersensibilidade dos quimiorreceptores na IC ao aumento da concentração da angiotensina II e à diminuição nas concentrações de óxido nítrico.

O Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA) é considerado como uma cascata proteica enzimática que através da geração de peptídeos intermediários, leva a produção de uma substância denominada de angiotensina II (VOLPE et al. 2002).

A liberação de renina está regulada por ações integradas de diferentes fatores que atuam sobre as células justaglomerulares da mácula densa renal, como; estimulação simpática dos vasos renais; diminuição da pressão de perfusão renal; mecanismo barorreceptor das células justaglomerulares e o reflexo túbulo glomerular (BAKRIS et al. 2010). A renina cataliza a conversão de angiotensinogênio hepático a angiotensina I, o que contribui para a produção de angiotensina II e conseqüentemente o aumento de seus níveis sistêmicos (SUN, 2010).

A enzima conversora de angiotensina (ECA), também chamada de dipeptidil carboxipeptidase I, cataliza a conversão de angiotensina I em angiotensina II, além de

estar envolvida na inativação de substâncias vasodilatadoras como bradicinina e substância P. Se encontra na superfície celular onde hidroliza peptídeos circulantes. É produzida por diferentes tecidos (sistema nervoso central, epitélio dos túbulos renais proximais, endotélio vascular e epitélio pulmonar) (ÁLVAREZ E FLORÉZ, 2012).

Em condições normais, os receptores de angiotensina I se expressam no coração, no cérebro, nos rins, nos pulmões, no fígado, nas glândulas adrenais e, sobretudo, nas células musculares lisas vasculares onde desencadeiam os efeitos da angiotensina II. Sua estimulação gera vasoconstrição, secreção do hormônio aldosterona, reabsorção tubular de sódio, secreção de vasopressina, hipertrofia celular e incrementa o transporte de cálcio. Os efeitos indesejados em longo prazo da aldosterona são de estimular a retenção renal e extrarrenal de sódio e água (à custa da excreção de potássio) e estimular o remodelamento vascular e do coração, o que contribui para a progressão da síndrome de insuficiência cardíaca (MILLER, 2007).

Montero e Campos (2008) relatam que na insuficiência cardíaca existe uma alteração neuroendócrina, em que o sistema simpático, o sistema renina angiotensina aldosterona, a vasopressina, os peptídeos natriuréticos entre outros, desempenham um papel preponderante. Nesse sentido, a integridade da circulação arterial deve ser analisada como o balanço que normalmente tem que existir entre o débito cardíaco e a resistência arterial periférica. Na insuficiência cardíaca encontramos um desequilíbrio entre estes dois parâmetros, conduzindo, portanto, a ativação crônica desses sistemas.

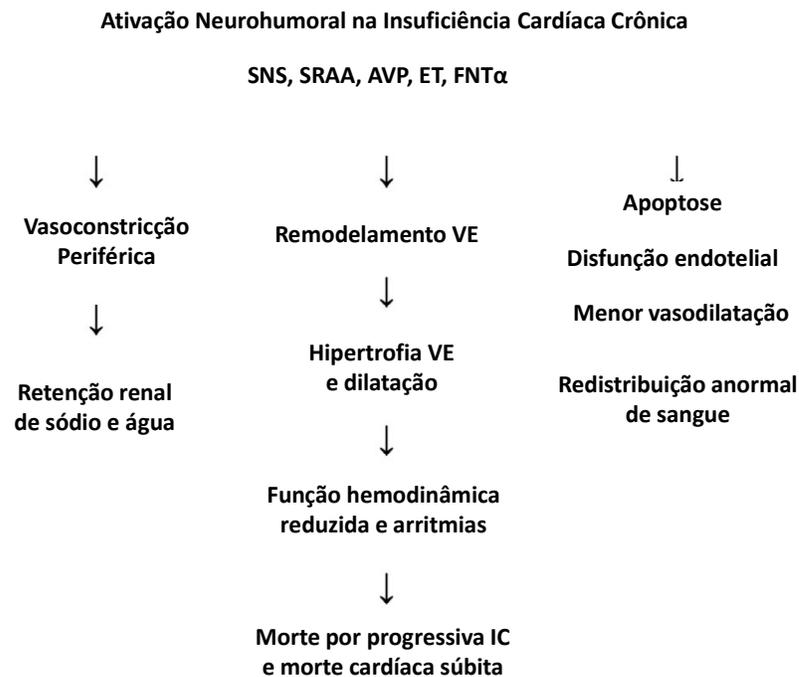


Figura 2. Esquema demonstrativo dos possíveis efeitos da ativação neurohumoral na insuficiência cardíaca crônica. SNS indica sistema nervoso simpático; SRAA sistema renina angiotensina aldosterona; AVP arginina vasopressina; ET receptores de endotelina A; TNF α receptores de fator de necrose tumoral alfa; VE ventrículo esquerdo (ARONOW, 2006).

2.4 Análise Espectral: Método e Utilização Clínica

2.4.1 Eletrocardiograma, exame Holter e suas indicações

O eletrocardiograma (ECG) apresenta-se como o primeiro exame complementar no diagnóstico cardiológico na clínica médica. Representa uma técnica de estudo da atividade elétrica cardíaca e constitui-se basicamente em doze derivações de registro, seis do plano elétrico frontal: as derivações periféricas D1, D2 e D3 (bipolares ou standards), aVR, aVL e aVF (unipolares), e seis do plano elétrico horizontal: as derivações precordiais V1 a V6 (unipolares). O papel de registro do ECG tem o desenho de pequenos quadrados de 1 mm de lado. A abscissa marca o intervalo de tempo, onde cada 1 mm corresponde a 40 ms, considerando-se a velocidade padrão de 25 mm/s; a ordenada marca a voltagem, em que 1 mm corresponde a 0,1 mV (FELDMAN E GOLDWASSER, 2004).

A sistemática de avaliação do exame eletrocardiográfico com a finalidade de facilitar o diagnóstico para o clínico, ainda de acordo com Feldman e Goldwasser (2004), deve seguir as seguintes etapas: frequência cardíaca (Fc); Ritmo cardíaco; Onda P; Segmento PR, Intervalo PR; Complexo QRS; Ponto J e Segmento ST; Onda T; Intervalo QT e Onda U (Figura 3).

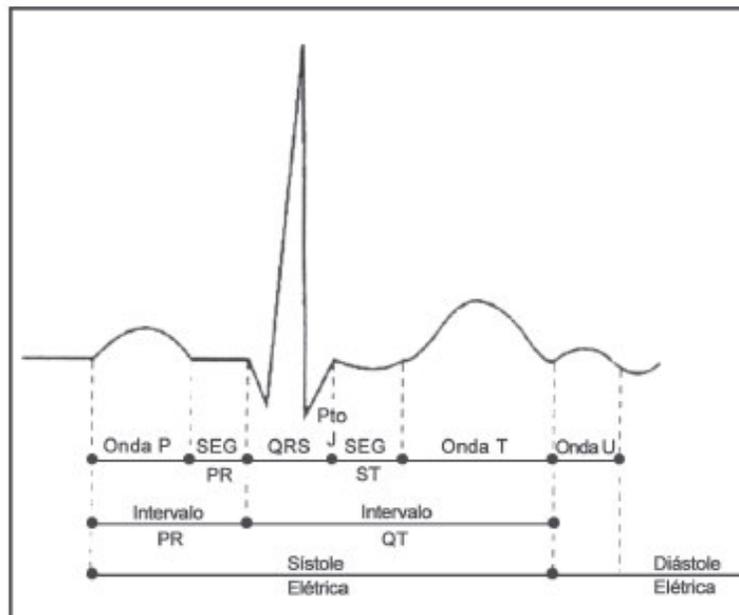


Figura 3. Esquema representativo de um traçado eletrocardiográfico normal com seus respectivos componentes: ondas, complexos, segmentos e intervalos. SEG segmento; Pto ponto (FELDMAN E GOLDWASSER, 2004).

Grupi et al. (1999), descrevem que a técnica de eletrocardiografia contínua (exame Holter), constitui um método não invasivo de monitoração cardíaca, utilizado na prática clínica para detectar e caracterizar ocorrências de comportamentos anormais da atividade elétrica cardíaca durante as atividades diárias rotineiras.

Em pequenos animais, esta ferramenta tem sido indicada para o diagnóstico de distúrbios do ritmo cardíaco não sustentados em pacientes com síncope, isquemia do miocárdio e cardiomiopatias (OLIVEIRA et al. 2012).

Grupi et al. (2000), relatam que como em alguns casos as variações do ritmo cardíaco podem ocorrer raramente, a técnica de eletrocardiograma deve ser registrado então por longos períodos de tempo.

De acordo com Oliveira et al. (2011), as principais indicações do exame Holter são no diagnóstico de arritmias, no estudo da variabilidade da frequência cardíaca e da eficácia de tratamentos antiarrítmicos (Quadro 5). Na Medicina Veterinária, o exame de Holter pode ser solicitado em ocasiões como: diagnóstico de arritmias intermitentes; relação dos sintomas (síncope, desmaios e convulsões) ou do período do dia com a ocorrência de arritmias; verificação da necessidade de se instituir terapia antiarrítmica; avaliação da eficácia do tratamento com fármacos antiarrítmicos; diagnóstico precoce de cardiomiopatia dilatada e da cardiomiopatia arritmogênica; estratificação de risco nas cardiopatias; acompanhamento periódico do paciente cardiopata, tanto nas doenças congênitas quanto nas adquiridas; avaliação mais detalhada do risco cirúrgico; diagnóstico precoce de arritmias em pacientes medicados com doxorrubicina; e estudo da variabilidade da frequência cardíaca.

Cavalcanti et al. (2009) relatam que o exame de Holter constitui-se o exame de escolha na identificação de arritmias com sinais clínicos intermitentes, na identificação da gravidade da cardiomiopatia arritmogênica ventricular direita de cães e apresenta importância na predição e no prognóstico da cardiomiopatia dilatada, além de ser o método mais adequado para avaliar o ritmo cardíaco em cães, pois permite a avaliação durante 24 horas e a observação da atividade elétrica cardíaca com o animal em diferentes graus de atividade.

Scheer et al. (2010), relatam que além do uso do exame Holter na rotina da Clínica Médica, este exame também apresenta indicações na ciência experimental em animais.

Seu uso está relacionado principalmente para avaliação do potencial arritmogênico de medicamentos pela detecção precoce de alterações eletrocardiográficas, antes que estes sejam liberados para uso ou comercialização (NOGUEIRA et al. 2006).

Quadro 5: Representação de algumas indicações para realização do exame de Holter e seus respectivos pacientes

INDICAÇÕES PARA O EXAME HOLTER	PACIENTES A SEREM AVALIADOS
Diagnóstico de arritmias intermitentes	Animais que apresentaram arritmias em exames de rotina na clínica.
Diagnóstico precoce das cardiopatias	Animais predispostos, como cães de raças grandes e gigantes, felinos com hipertireoidismo ou das raças Maine Coon e Persa.
Correlação de sinais clínicos com a ocorrência de arritmias	Animais que apresentam síncope e desmaios.
Eficácia e ajuste do tratamento com antiarrítmicos	Cardiopatas em início de tratamento e cardiopatas crônicos.
Estratificação de risco nas cardiopatias	Animais cardiopatas que apresentam doenças graves e avançadas.
Acompanhamento do paciente cardiopata	Animais com doenças adquiridas e congênitas.
Avaliação pré-cirúrgica	Animais idosos e/ou portadores de cardiopatia.
Estudo da VFC	Diagnóstico precoce da insuficiência cardíaca; animais cardiopatas pra monitoração da gravidade da doença.

Fonte: (Modificado de: OLIVEIRA et al. 2011).

2.4.2 Principais parâmetros estudados no exame Holter

O principal parâmetro avaliado no exame de Holter é a variabilidade da frequência cardíaca nos domínios do tempo e da frequência, fornecidos diretamente por programa específico de análise computacional (OLIVEIRA et al. 2011).

Carareto et al. (2007) afirmam que apesar de haver alguns parâmetros no domínio do tempo passíveis de serem analisados pela eletrocardiografia convencional, o melhor método para essa análise é o exame de Holter, no qual a avaliação é feita considerando-se maior número de dados e obtendo-se resultados mais consistentes.

No domínio do tempo são avaliadas as seguintes variáveis NN médio (média de todos os intervalos RR normais do exame), SDNN (desvio padrão de todos os intervalos RR normais do exame), SDANN (desvio padrão das médias dos intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos), SDNN index (médias dos desvios padrão calculados para intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos), rMSSD (raiz quadrada da média da soma da diferença de quadrados de intervalos RR normais adjacentes ao exame todo) e pNN50 (porcentagem de diferenças maiores que 50 ms entre intervalos RR normais adjacentes do exame todo). No domínio da frequência, são avaliadas as seguintes variáveis: HF (frequência alta), que compreende de 0,15 a 0,4 Hz ou 2,5 a 6,6 s/ciclo; LF (frequência baixa), que compreende de 0,04 a 0,15 Hz ou 6,6 a 25 s/ciclo; VLF (frequência muito baixa), que compreende de 0,0033 a 0,04 Hz ou 25 s a 5 min/ciclo; ULF (frequência ultrabaixa), que compreende valores menores que 0,0033 Hz ou maiores que 5 min/ciclo; e a razão entre os componentes LF e HF (LF/HF) (OLIVEIRA et al. 2011).

Além de analisar a variabilidade da frequência cardíaca, o exame de Holter fornece o número total de complexos QRS (total de batimentos do coração), os valores de média, mínima e máxima frequência cardíaca, períodos nos quais o animal permanece com taquicardia ou bradicardia, momentos em que ocorrem pausas entre os batimentos cardíacos (maiores que 2 segundos), assim como a duração de cada uma delas. Quanto às arritmias supraventriculares e ventriculares, é fornecida a quantidade dos complexos prematuros e sua apresentação, que podem ser classificados em complexos isolados, em pares, em salvas e monomórficos ou polimórficos em taquicardias ou em ciclos (de bigeminismo, trigeminismo, dentre outras) (OLIVEIRA et al. 2011).

De acordo com Leomil Neto et al. (2002), a monitorização eletrocardiográfica ambulatorial por período de 24 horas (Sistema Holter) constitui-se em uma modalidade de diagnóstico não invasivo, comumente utilizada em medicina humana para avaliar o ritmo cardíaco em várias situações. A avaliação tem como princípio o registro contínuo do eletrocardiograma, geralmente por período de 24 horas. Em cães, a interpretação do traçado eletrocardiográfico é feita em conjunto com um relatório de atividades do animal, o que possibilita relacionar as possíveis manifestações clínicas apresentadas pelo paciente com sua atividade física durante o período observado. O traçado deve ser investigado também quanto à presença de complexos de escape, de bloqueios atrioventriculares (primeiro, segundo ou terceiro grau) e das mais diversas alterações do ritmo cardíaco.

Em alguns modelos de insuficiência cardíaca em pequenos animais, parâmetros da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência são comumente estudados em períodos inferiores a vinte e quatro horas, como descrito por Zhou et al. (2009). Estes autores trabalharam com cães submetidos à ICC pela implantação de um eletrodo endocárdico no ápice ventricular direito via veia jugular externa e através da ligação deste a um gerador, foi instituída frequência cardíaca de 240 bpm. Os valores da VFC foram então avaliados durante o traçado de ECG contínuo de trinta minutos.

2.4.3 Limitações do exame Holter

Animais de porte muito pequeno que não tolerem o peso do aparelho acomodado junto ao corpo, podem ser monitorados sem que o aparelho fique preso junto a eles. Porém, esses animais devem permanecer durante todo o período do exame em um canil (ou outro lugar com limitação de espaço para reduzir sua movimentação), para não arrastarem o aparelho consigo ao se movimentar. Este tipo de situação, portanto, poderá alterar significativamente os parâmetros estudados principalmente pelo estresse gerado. Uma crucial limitação no estudo da variabilidade da frequência cardíaca é a ausência de valores de referência que norteiem o clínico em uma avaliação mais precisa dos parâmetros analisados. Outro fator importante, é que ao contrário do exame de eletrocardiografia convencional, no qual o traçado é visualizado no momento do exame, para o exame de Holter é necessário que se aguarde o final de todo o período de monitoração para então se conseguir visualizar o exame e elaborar o laudo (OLIVEIRA et al. 2011).

2.4.4 Variabilidade da frequência cardíaca (VFC)

A duração do ciclo cardíaco, medida pelo tempo transcorrido entre duas ondas R consecutivas no ECG não é constante, ocasionando uma variação entre os intervalos R-R sucessivos, denominada de variabilidade da frequência cardíaca (REIS et al. 1998).

A frequência cardíaca está constantemente submetida a flutuações no tônus autonômico, determinadas pela ativação e/ou inibição simpática e parassimpática. Diferentes estímulos como respiração, contração muscular e graus variáveis de estimulação dos barorreceptores arteriais, são os responsáveis por este padrão dinâmico da atividade autonômica. Desta forma, vários métodos foram desenvolvidos para avaliar a função autonômica através do comportamento da frequência cardíaca (REIS et al. 1998).

Segundo Cambri et al. (2008), a liberação de acetilcolina pelos terminais parassimpáticos exerce sua influência na despolarização do nodo sinusal e, por apresentar uma velocidade de remoção muito rápida, provoca oscilações na duração dos intervalos R-R, acarretando variações rítmicas na frequência cardíaca. Inversamente, a noradrenalina, liberada pelos terminais simpáticos, possui uma velocidade de remoção lenta, ocasionando uma variação rítmica na frequência cardíaca, que pode então ser observada somente em registro de longo prazo. Desta forma, a VFC é determinada pela integração entre modulação rápida e lenta.

De acordo com Hautala (2004) e Lima e Kiss (1999), essas variações ocorridas, portanto na FC serão atribuídas, principalmente, às oscilações da atividade parassimpática e, portanto, a amplitude da VFC reflete a atividade vagal sobre o coração.

O estudo da VFC é um método que nos permite analisar flutuações que ocorrem durante períodos curtos ou prolongados (24 horas), tendo a vantagem de possibilitar uma avaliação não invasiva e seletiva da função autonômica. Este tipo de análise recebeu grande impulso após o estabelecimento da forte e independente relação entre VFC e mortalidade após infarto agudo do miocárdio (BIGGER et al. 1992; KLEIGER et al. 1987).

Dentre as muitas propriedades cárdicas, o automatismo se destaca por possibilitar a despolarização involuntária do órgão e sustentar a vida. Ainda assim, a frequência intrínseca de despolarização cardíaca é modulada pelo sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático, que proporcionam homeostase em diferentes situações da vida do animal. A ativação do sistema nervoso simpático (SNS) resulta em maior cronotropismo, inotropismo e dromotropismo cardíaco, além de redistribuir a circulação sanguínea e ativar sistemas como o sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), preparando o organismo para situações de estresse. Em contrapartida, a ativação do sistema nervoso parassimpático modula de maneira

inversa essas variáveis, constituindo, dessa forma, o balanço autonômico cardíaco (TILLEY et al. 2007).

Este balanço exercido pelo sistema nervoso autônomo é determinado por inúmeros fatores incluindo a respiração, estresse, temperatura, pressão sanguínea e atividade física. O movimento respiratório pode inibir centralmente a ativação simpática e estimular periféricamente o nervo vago, por receptores de pressão arterial. As variações da pressão arterial, percebidas por barorreceptores, induzem resposta compensatória por inibição ou estimulação simpática central. Da mesma forma, ativação do SRAA e a termorregulação, são capazes de modificar a resistência vascular periférica e/ou débito cardíaco, modificando a pressão arterial e ativando as vias modulatórias da pressão (AMPUERO, 2013).

De acordo com Bilchick (2006), quanto maior a variabilidade temporal dos intervalos entre batimentos consecutivos (R-R), maior a atividade parassimpática.

A modulação parassimpática do nodo sinusal é mediada por liberação de acetilcolina pelo nervo vago. Receptores muscarínicos respondem a este neurotransmissor aumentando a permeabilidade celular ao potássio, diminuindo o potencial de membrana e frequência de despolarização destas células. A atuação do Sistema Nervoso Autônomo Simpático no coração é intermediada pela adrenalina e noradrenalina, ligados aos receptores beta adrenérgicos, que aumentam o ritmo de despolarização sinusal. Embora trabalhem em sintonia e equilíbrio, a variação da frequência cardíaca parece ser mais dependente do tônus parassimpático, que é dominante em situações normais (MALIK et al. 1996).

A variação dos intervalos de despolarização cardíaca, promovida pela influência autonômica, pode ser detectada ao eletrocardiograma (ECG) pelas diferentes distâncias entre as ondas R normais (intervalos RR ou NN). A variabilidade da frequência cardíaca é o método que quantifica essas variações e assim, infere sobre a modulação autonômica cardíaca, que reflete o funcionamento do sistema nervoso autônomo. Embora existam vários métodos para determinação destes índices, utiliza-se principalmente a VFC no domínio do tempo, que se baseia em cálculos estatísticos, ou domínio da frequência, no qual as frequências cardíacas são transformadas em potência (STEIN et al. 1994, LOMBARDI et al. 1996; BERNTSON et al. 1997; HUIKURI et al. 1999; KLEIGER et al. 2005).

Goldberger (1999) demonstrou que a simples medida do intervalo RR é o melhor parâmetro para estudar o balanço simpátovagal, enquanto que a variabilidade da frequência cardíaca fornece uma melhor medida da modulação do estímulo autônomo para o nodo sinusal cardíaco.

A variabilidade da frequência cardíaca é tipicamente medida examinando batimentos cardíacos normais sucessivos, sendo os batimentos prematuros excluídos, assim como o batimento seguinte compensatório. A variabilidade da frequência sinusal é resultado de variações no estímulo autonômico ao nodo sinusal e modificações nessa variabilidade podem ser usadas como marcadores confiáveis de tal estímulo para o coração. O primeiro passo na análise da variabilidade da frequência cardíaca é a medida de ondas R consecutivas no traçado do ECG. O mais importante passo na medida da frequência cardíaca é a determinação correta dos pontos correspondentes à ativação ventricular (CALVERT, 1998).

Ainda de acordo com Calvert (1998), arritmias ventriculares que ameaçam a vida ocorrem como resultado de uma combinação de fatores como substrato arritmogênico, gatilhos arritmogênicos e flutuações no tônus autonômico. O eletrocardiograma torna-se útil para investigar os substratos e, apesar da investigação do tônus autonômico ser difícil, a variabilidade da frequência cardíaca pode ser clinicamente útil na avaliação da responsividade cardiovascular a alterações autonômicas.

2.4.4.1 VFC no domínio do tempo

As chamadas medidas no domínio do tempo são índices obtidos de um registro contínuo de ECG, a partir do qual se determina a dispersão da duração dos intervalos entre complexos QRS normais, isto é, resultantes de despolarização sinusal. Os vários índices propostos para mensuração da VFC no domínio do tempo podem ser derivados de cálculos aritméticos, estatísticos ou geométricos (Histograma R-R) (European Society of Cardiology, 1996); (REIS et al. 1998) (Quadro 6).

A VFC no domínio do tempo quantifica as variações diretas entre os intervalos NN (RR) ou entre as diferenças dos intervalos NN (RR) normais consecutivos. As variáveis calculadas por este método são representadas por valor médios dos intervalos NN (NN médio), desvio padrão entre todos os intervalos NN (SDNN), desvio padrão dos intervalos NN médios obtidos a cada cinco minutos (SDANN), média dos desvios padrão entre intervalos NN obtidos a cada cinco minutos (SDNNi), raiz quadrada da média entre as diferenças ao quadrado dos intervalos NN consecutivos (rMSSD) e percentagem de intervalos consecutivos com diferença superior a 50 ms (pNN50) (STEIN e KLEIGER, 1999).

Quadro 6. Definição dos índices do domínio do tempo da Variabilidade da Frequência Cardíaca.

Índices	Unidade	Definição
RR médio	ms	Média de todos os intervalos RR normais
SDNN	ms	Desvio padrão de todos os intervalos RR normais
SDNNi	ms	Médias dos desvios padrões dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5 minutos
SDANN	ms	Desvio padrão das médias dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5 minutos
RMSSD	ms	Raiz quadrada da soma das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado
pNN50	%	Percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 milissegundos de seu adjacente.

Fonte: Reis et al. (1998).

Embora existam pequenas divergências quanto à participação simpática e parassimpáticas das variáveis descritas, sabe-se que grande parte da magnitude do SDNN, em vinte e quatro horas de registro, é atribuída à diferença dos intervalos NN observada entre o dia e a noite (ritmo circadiano). Modificações nos valores desta variável podem ocorrer em consequência da edição inadequada ou tempo insuficiente de registro do ECG, produzindo valores não verdadeiros (KLEIGER et al. 2005).

Menos sujeito aos erros de edição, o SDANN é calculado a partir de valores médios de muitos intervalos NN, os quais diluem possíveis interferências de ritmos anormais despercebidos. A base de cálculo empregada neste índice permite detectar flutuações da frequência cardíaca em longo prazo, excluindo, por exemplo, a influência exercida pela estimulação vagal durante a respiração ou eventos estressantes menores que cinco minutos (MALIK et al. 1996; STEIN e KLEIGER, 1999). Situada entre as variáveis que sofrem interferências a curto (NN médio e SDNN) e longo prazos (SDANN), o SDNNi altera-se por

modificações da frequência cardíaca ocorridas dentro de períodos menores que cinco minutos (CALVERT, 1998).

2.4.4.2 VFC no domínio da frequência

A variabilidade da frequência cardíaca também pode ser avaliada através das medidas no domínio de frequência. Estas medidas são derivadas da análise da densidade do espectro de potência que descreve a distribuição da densidade (variância) em função da frequência. A análise espectral decompõe a variabilidade total da frequência cardíaca em seus componentes causadores, apresentando-os segundo a frequência com que alteram a frequência cardíaca (AKSEROLD et al. 1981; SAUL, 1990; MORAES & FERLIN, 1992).

Independente do método utilizado para cálculo da densidade espectral, delimitam-se quatro faixas de frequências distintas (Tabela 1).

Tabela 1. Apresentação das diferentes faixas de frequências utilizadas na avaliação da Variabilidade da Frequência Cardíaca no Domínio da Frequência.

ALTA FREQUÊNCIA (HF)	0,15 A 0,4 Hz	Modulada pelo SNAP e gerada pela respiração
BAIXA FREQUÊNCIA (LF)	0,04 a 0,15 Hz	Modulada tanto pelo SNAS e SNAP. Tem sido correlacionada ao sistema barorreceptor e termorregulador, à atividade periférica vasomotora e ao SRAA
MUITO BAIXA FREQUÊNCIA (VLF)	0,01 a 0,04 Hz	Proposta como marcador da modulação simpática e relacionada também com respostas humorais.
ULTRA BAIXA FREQUÊNCIA (ULF)	10^{-5} a 10^{-2} Hz	Sem interpretação fisiológica

Fonte: Adaptado de Malik (1995).

Segundo Cambri et al. (2008), os componentes de alta e baixa frequência são assim chamados devido ao fato do nervo vago e o sistema simpático enviarem, respectivamente maior ou menor frequência de impulsos sobre o nodo sinusal. Esses componentes são mensurados em unidades absolutas de potência (ms^2) ou podem ser expressos em valores relativos à potência total subtraindo-se o componente de muito baixa frequência.

Os componentes da LF e HF são medidos em unidades absolutas de potência (milissegundos ao quadrado) ou podem ser representados em valores relativos à potência total menos o componente de ULF. A relação da potência de LF para a de HF (LF/HF) pode ser considerada uma medida de equilíbrio simpato-vagal (MALLIANI et al. 1991; MORAES & FERLIN, 1992; LOMBARDI et al., 1987; AKSEROLD et al. 1985).

2.4.5 VFC e insuficiência cardíaca:

A diminuição da variabilidade da frequência cardíaca, representada pela diminuição dos valores no domínio do tempo e frequência, constitui um importante fator prognóstico para o aparecimento de eventos cardíacos em indivíduos previamente saudáveis e em indivíduos portadores de cardiopatias. Esta diminuição da VFC está relacionada, portanto, à hiperatividade adrenérgica e diminuição da atividade parassimpática cardíaca (REIS, 2008).

A insuficiência cardíaca é caracterizada por um acentuado desequilíbrio no eixo neurohumoral, o qual é considerado um grande fator agravante na insuficiência circulatória dos pacientes. (AMORIM et al., 1981; ASANOI et al. 1995; COHN et al., 1984).

Grande importância clínica é assim atribuída a VFC, uma vez que está relacionada ao prognóstico e determinação do risco de morte súbita em algumas patologias cardiovasculares (HULL et al. 1994, MALIK et al. 1996, CALVERT, 1998, ROVERE et al. 2001, BUCH et al. 2002, BILLMAN e KUKIELKA, 2006). Após descoberta desta correlação, melhorar a função autonômica, reduzindo assim o risco de morte súbita, passou a ser priorizada na prática clínica.

A progressão da doença cardíaca leva a diminuição da VFC, com aumento no controle simpático e diminuição do controle parassimpático do coração, a qual é relatada em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva secundária a várias doenças cardíacas (VANDERLEI et al., 2009).

Oliveira et al. 2014, relataram que em um estudo com vinte e um cães portadores de doença degenerativa da válvula mitral quando comparados ao grupo controle (animais saudáveis), apresentaram diminuição significativa da potência total. Cães com insuficiência cardíaca apresentaram alta incidência de arritmias supraventriculares; frequências cardíacas aumentadas; pequenas quantidades de pausas superiores a dois segundos entre batimentos cardíacos consecutivos; maior permanência em taquicardia do que em bradicardia; diminuição do componente de alta frequência (HF – indicativo de controle do sistema nervoso autônomo parassimpático) e elevação do componente de baixa frequência (LF – indicativo de controle simpático e parassimpático) ($p < 0,05$).

Noszczyk-Nowak (2012) utilizou trinta cães saudáveis e trinta cães portadores de cardiomiopatia dilatada (CMD), composto por Boxers e Doberman Pinchers, de diferentes sexos e pesos corporais de 22 a 72 kg, idades entre 1,5 a 11,5 anos de vida e submetidos a exames de Holter com duração de vinte e quatro horas. O objetivo deste estudo foi avaliar a turbulência da frequência cardíaca (HRT – Heart rate turbulence) - o início da turbulência (TO – turbulence onset) e a inclinação da turbulência (TS – turbulence slope) nesses grupos de animais e comparar a turbulência da frequência cardíaca em cães com CMD que morreram durante os primeiros trinta dias de observação e cães que sobreviveram durante os primeiros dias após a análise do estudo. De acordo com o autor, TO é uma diferença percentual entre a frequência cardíaca imediatamente após a formação de um complexo ventricular prematuro e a frequência cardíaca antes do acontecimento deste evento. TS corresponde à inclinação mais íngreme da linha de regressão linear para cada sequência de cinco intervalos normais consecutivos no tacograma local. Os parâmetros de turbulência da frequência cardíaca foram menores em cães com CMD quando comparados estatisticamente ($p < 0,01$) com o outro grupo. TO e TS foram significativamente menores em cães com cardiomiopatia dilatada. Cães com CMD que sobreviveram mais do que trinta dias de observação tiveram HRT menores estatisticamente em comparação aos cães com CMD que morreram após 30 dias de observação. O Autor sugere que a diminuição dos parâmetros da HRT em cães com CMD esteja relacionada com uma neuropatia autonômica, a qual consiste principalmente da retirada do tônus cardíaco parassimpático.

Júnior et al. (1990), testaram a hipótese que baixos valores de variabilidade da frequência cardíaca proporcionam avaliação de risco antes ou depois de infarto do miocárdio, utilizando um modelo experimental canino de morte súbita. Foi avaliado o risco de morte súbita um mês após o infarto por um protocolo combinado de exercício e isquemia miocárdica. Os cães que desenvolveram fibrilação ventricular foram classificados como alto risco de morte súbita (suscetíveis) e os sobreviventes foram considerados como baixo risco (resistentes). Em cães resistentes, o infarto do miocárdio não afetou qualquer medida da variabilidade da frequência cardíaca. Ao contrário, após o infarto do miocárdio, cães suscetíveis mostraram diminuições significativas em todas as avaliações da variabilidade da frequência cardíaca. Antes do infarto do miocárdio, nenhuma diferença foi vista entre cães suscetíveis e resistentes. Assim, os autores concluem que os resultados das análises de um período de trinta minutos em repouso trinta dias após o infarto do miocárdio são altamente preditivos para aumento do risco de morte súbita.

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC), calculada na frequência do domínio do tempo, diminui na insuficiência cardíaca congestiva (ICC). Na análise espectral da VFC, o componente de baixa frequência (LF) reduz em pacientes com ICC e esta diminuição está relacionada a um aumento no risco de morte súbita. Usando o modelo experimental de implantação de um radiotransmissor, Piccirillo et al. (2009) estudaram a integração da atividade nervosa do gânglio estrelado esquerdo, atividade nervosa vagal e traçados eletrocardiográficos antes e depois de ICC induzida por estimulação em seis cães ambulatoriais. Foi analisada em curto prazo a densidade do poder espectral durante alta, média e baixa atividade simpática e vagal, dados caracterizados pela mesma atividade nervosa autônoma padrão em “baseline” e depois da ICC induzida por estimulação. Quando comparado com a “baseline”, as variáveis espectrais durante a ICC mostraram diminuição da potência total ($p = 0,02$), da potência LF ($p < 0,0001$) e a relação LF/HF ($p < 0,005$) e aumento da atividade do nervo vagal e atividade nervosa do gânglio estrelado ($p < 0,0001$). Somente em “baseline”, a atividade nervosa do gânglio estrelado correlacionou positivamente com o componente de baixa frequência (LF) ($p < 0,05$). Sob a mesma condição a atividade nervosa do gânglio estrelado correlacionou positivamente com o componente de alta frequência (HF) representadas como unidades normalizadas ($p < 0,05$) e negativamente com o componente de baixa frequência representados ambos como potência absoluta ($p < 0,05$) e unidades normalizadas ($p < 0,05$). Os autores atribuem esses resultados provavelmente ao reflexo de uma responsividade diminuída do nodo sinusal à modulação autônoma ou uma função barorreflexa anormal preferencialmente a uma atividade simpática aumentada.

Em um estudo da VFC no domínio do tempo, utilizando quarenta e oito cães de diferentes raças de pequeno e médio portes portadores de doença valvar degenerativa crônica de mitral, Ampuero (2013) relatou que cães com DVDCM apresentaram valores diminuídos de NN (RR) médio (NNm), SDNN, SDNNindex e pNN50%. Atribui a queda desses valores a uma diminuição da participação do sistema nervoso parassimpático e um aumento da participação do sistema nervoso simpático. Além disso, o autor também constatou em seu estudo, um aumento da frequência cardíaca média e um aumento do número de complexos QRS, também relacionados a uma maior participação simpática. Ficou também determinado nesse estudo, um maior predomínio das arritmias ventriculares.

Analisando resultados da avaliação do exame Holter em cães portadores de degeneração da valva mitral e divididos nos diferentes graus de IC, Oliveira (2009), demonstrou que cães inseridos na Classe III de IC apresentaram valores significativamente superiores de frequência cardíaca. A autora relaciona estes achados à alteração do controle autônomo do coração com predominância do sistema nervoso simpático. Em cães saudáveis ou em IC em grau leve, sem congestão instalada, observa-se predominância do controle vagal sobre o coração, confirmado com valores mais baixos da frequência cardíaca nos cães saudáveis. Os parâmetros avaliados da

VFC apresentaram valores significativamente menores devido ao aumento da FC secundária a ICC. Os resultados mostraram que os valores de NNmédio; SDNN; SDANN; SDNNindex; rMSSD e pNN50 foram significativamente menores nos pacientes com IC na Classe III.

Zhou et al. (2009) estudaram parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca em um modelo experimental de cães submetidos à ICC pela implantação de um eletrodo endocárdico no ápice ventricular direito via veia jugular externa e através da ligação deste a um gerador, foi instituída frequência cardíaca de 240 bpm. Os valores da VFC foram avaliados durante ECG contínuo de trinta minutos e analisados no domínio do tempo e da frequência. Os cães submetidos à ICC quando comparados aos cães submetidos à falsa cirurgia mostraram sinais claros de congestão e diminuição significativa nos marcadores de avaliação de função autonômica: VFC e sensibilidade barorreflexa. Tanto os valores do domínio do tempo como no domínio da frequência da VFC (SDNN, rMSSD, PNN50, VLF, LF, HF) foram menores significativamente nos animais submetidos à ICC, entretanto, a relação LF/HF não mostrou tais diferenças.

2.5 Terapia Farmacológica Convencional e Uso do Fármaco Pimobendan na Insuficiência Cardíaca em Cães

O tratamento da insuficiência cardíaca objetiva aliviar os sintomas da insuficiência e disfunção cardíaca porque, na maioria dos casos, a doença cardíaca é incurável. Além disso, esse tipo de terapia visa aumentar o tempo de sobrevivência do paciente. Sinais de congestão podem ser tratados com drogas que reduzem a pressão intra cardíaca (redutores de pré-carga como diuréticos e venodilatadores) e agentes farmacológicos que facilitam a função cardíaca (inotrópicos positivos e dilatadores arteriais). Torna-se extremamente importante notar que a terapia instituída a um cão com insuficiência cardíaca, será determinada pelos seus sinais clínicos apresentados e sua gravidade, além da causa primária da doença. Em geral, a combinação de inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), diuréticos e digoxina representam a terapia convencional para a insuficiência cardíaca crônica (TILLEY et al. 2007).

Caro et al. (2009) relatam que o tratamento clássico para o controle dos sinais clínicos desenvolvidos na insuficiência cardíaca congestiva inclui diuréticos, vasodilatadores e drogas antiarrítmicas.

O protocolo terapêutico convencional para o tratamento de insuficiência cardíaca congestiva consiste no uso de diuréticos e agentes adicionais, como as drogas classificadas como inibidoras da enzima conversora de angiotensina (iECA). Recentemente a associação de Pimobendan aos protocolos terapêuticos padrões foi associada a melhoras nos sinais clínicos e qualidade de vida em cães cardiopatas. O Pimobendan é um fármaco inodilatador, promovendo uma inibição sobre a fosfodiesterase III apresentando, portanto, propriedade inotrópica positiva e vasodilatadora, o que determina um aumento do débito cardíaco e da contratilidade do miocárdio. O uso da droga está associado a uma melhora na qualidade de vida de cães com doenças degenerativas valvulares e também em cardiomiopatia dilatada (SUZUKI et al. 2011).

Pimobendan é uma nova droga que tem demonstrado ser efetiva no tratamento de insuficiência cardíaca congestiva secundária à doença cardíaca valvular crônica e cardiomiopatia dilatada na espécie canina. Trata-se de um inodilatador exercendo um efeito inotrópico por um duplo mecanismo de ação consistindo de sensibilização ao cálcio e inibição da fosfodiesterase 3 (PDE3) e exercendo um efeito vasodilatador via inibição da PDE3 (BOYLE e LEECH, 2012). Este fármaco trata-se de um derivado benzimidazol-piridazinona aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) para tratamento de insuficiência cardíaca congestiva em cães. Devido seu mecanismo de ação não ser dependente de catecolaminas

endógenas, estimulação de receptores cardíacos beta adrenérgicos, ou inibição da $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$, o Pimobendan, portanto é classificado como droga inotrópica não simpatomimética e não glicosídica (KITZEN, 1989).

Sensibilização ao cálcio, o efeito inotrópico predominante do Pimobendan na insuficiência cardíaca, envolve aumento da afinidade do sítio de regulação para o cálcio da troponina C (TnC) cardíaca. TnC representa a subunidade ligadora ao cálcio do sistema regulador miofibrilar troponina-tropomiosina. A ligação do cálcio a troponina C leva a ativação da interação das proteínas miofibrilares, geração de força e contração dos cardiomiócitos. O grau de ativação e posteriormente força de contração, está diretamente relacionado à concentração de cálcio livre citosólico bem como sua afinidade de ligação para a troponina C (BOYLE e LEECH, 2012).

Inotropismo positivo atinge-se também via efeitos inibitórios do pimobendan na PDE3 dentro dos cardiomiócitos. O próximo efeito da inibição da PDE3 é um aumento do monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), o qual é o mais importante segundo mensageiro nos cardiomiócitos. Estimulação de muitas células ocorrem através da ativação de receptores acoplados a proteína G que sinalizam e regulam a produção de cAMP. Em muitas células, o cAMP ativa a proteína Kinase dependente de cAMP (PKA) que cataliza e transfere grupos fosfatos terminais do ATP para substratos específicos. Para manter o balanço de cAMP, a remoção é realizada pelas PDEs que hidrolizam ligantes fosfodiesterados do cAMP. Das onze famílias de fosfodiesterases, as famílias PDE3 e PDE5 possuem relevantes papéis clínicos no sistema cardiovascular. A inibição da PDE3 pelo Pimobendan nos cardiomiócitos resulta na fosforilação de diversos substratos. Fosforilação de fosfolambam aumenta o seqüestro de cálcio pelo retículo sarcoplasmático durante a diástole. Fosforilação de canais liberadores de cálcio (canais de ryanodina) causa aumento da liberação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático durante a sístole. Fosforilação de canais de cálcio tipo-L aumenta o influxo de cálcio durante a sístole (Figura 4). Cada um desses efeitos mediados pela inibição da PDE3 contribui para o inotropismo positivo (BRUNKHORST et al. 1989; HAMBLETON et al. 2005).

De acordo com Parsons et al. (1988) e Ungerer et al. (1990), um metabólito ativo do pimobendan (UD-CG 212 Cl), tem mostrado ser um antagonista competitivo para receptores A1 de adenosina, o qual é comumente conhecido como um menor contribuidor para aumentar o inotropismo. Receptores A1 de adenosina são distribuídos pelo corpo e possuem uma função inibitória em muitos tecidos. Bloqueando os efeitos inibitórios da estimulação de receptores A1 de adenosina no coração, leva a síntese de cAMP e inotropismo positivo.

A ação inibitória da PDE3 pelo pimobendan torna-se amplamente responsável pelos efeitos inotrópicos positivos no coração sadio. Na insuficiência cardíaca alguns estudos indicam que são os efeitos à sensibilização ao cálcio que predominam (SATO et al. 1999; SCHELD et al. 1989).

Sensibilização ao cálcio possui benefícios farmacológicos sobre outros agentes inotrópicos, como os digitais e catecolaminas, os quais aumentam as concentrações de cálcio citosólico. Aumento do cálcio citosólico está associado com riscos de sobrecarga de cálcio, consumo miocárdico de oxigênio aumentado e arritmias. Além disso, os efeitos inotrópicos positivos das catecolaminas são frequentemente rapidamente perdidos durante a administração crônica pela “down regulation” de receptores beta adrenérgicos (ENDO H E HORI, 2006).

Além do efeito inotrópico positivo, pimobendan resulta em dilatação arterial e venosa. Esses efeitos são mediados via inibição da fosfodiesterase nas células musculares lisas vasculares, com aumento do cAMP e monofosfato cíclico de guanosina (cGMP), dois sistemas enzimáticos que desempenham importantes papéis na manutenção das células do músculo liso vascular. O aumento de cAMP e cGMP no músculo liso vascular facilita a captação de cálcio por sítios de estoque intracelulares, desse modo diminuindo a quantidade

de cálcio disponível para contração. O resultado final mostra-se com vasodilatação de leitos vasculares pulmonares e sistêmicos via relaxamento de musculatura lisa. Embora os efeitos venodilatadores terem sido mostrados em algumas espécies, ser mais pronunciado que dilatação arterial, pimobendan é geralmente considerado ter efeitos vasodilatadores balanceados (BOYLE e LEECH, 2012; RAO e XI, 2009).

De acordo com KANNO et al. (2007), pimobendan possui algumas propriedades adicionais favoráveis, como atividade antitrombótica, repressão da atividade nervosa simpática, melhora do relaxamento do ventrículo esquerdo, depressão da produção de óxido nítrico e efeitos anticitocinas que reduzem fatores de necrose tumoral alfa (KANNO et al. 2007).

Smith et al. (2005), relatam que cães com insuficiência cardíaca (Classe II-III NYHA) portadores de doença valvular mitral mixomatosa quando tratados com pimobendan, apresentaram maior tolerância ao exercício e melhores resultados que cães tratados com ramipril, um inibidor da enzima conversora de angiotensina.

Caro et al. (2009), utilizando em seu estudo vinte cães portadores de doença mixomatosa de válvula mitral submetidos a um tratamento de curto prazo (quatro semanas) com pimobendan, relatam que a maior parte dos pacientes melhorou em relação aos sintomas clínicos. Intolerância ao exercício mostrou uma evidente e significativa melhora, com todos os pacientes apresentando um menor grau de intolerância após o tratamento. O estudo radiográfico mostrou que o grau de congestão pulmonar diminuiu significativamente. A Ecocardiografia mostrou um aumento significativo no valor da fração de encurtamento (FE). Os pacientes não desenvolveram arritmias e a frequência cardíaca mostrou-se estável durante todo o estudo.

Kanno et al. (2007), estudaram os efeitos do Pimobendan sobre a função cardíaca, hemodinâmica e fatores neurohumorais em cães com regurgitação de válvula mitral. Os animais receberam uma dose de 0,25 mg/Kg de Pimobendan por via oral a cada doze horas durante um período de quatro semanas. Com esta terapia farmacológica, a frequência cardíaca e o volume sistólico não se alteraram. A pressão arterial sistólica diminuiu gradualmente e o grau de regurgitação da válvula mitral mostrou tendência à redução. O fluxo sanguíneo renal foi significativamente aumentado e a taxa de filtração glomerular foi ligeiramente aumentada em duas e quatro semanas. Além disso, após um período de quatro semanas, a concentração plasmática de noradrenalina diminuiu significativamente.

Apesar de inúmeros trabalhos na literatura científica comprovarem os efeitos benéficos da terapia com pimobendan em cães portadores de insuficiência cardíaca, não encontramos estudos que até então se preocupassem em descrever os possíveis efeitos desta droga na variabilidade da frequência cardíaca, ou seja, na modulação do balanço simpátovagal.

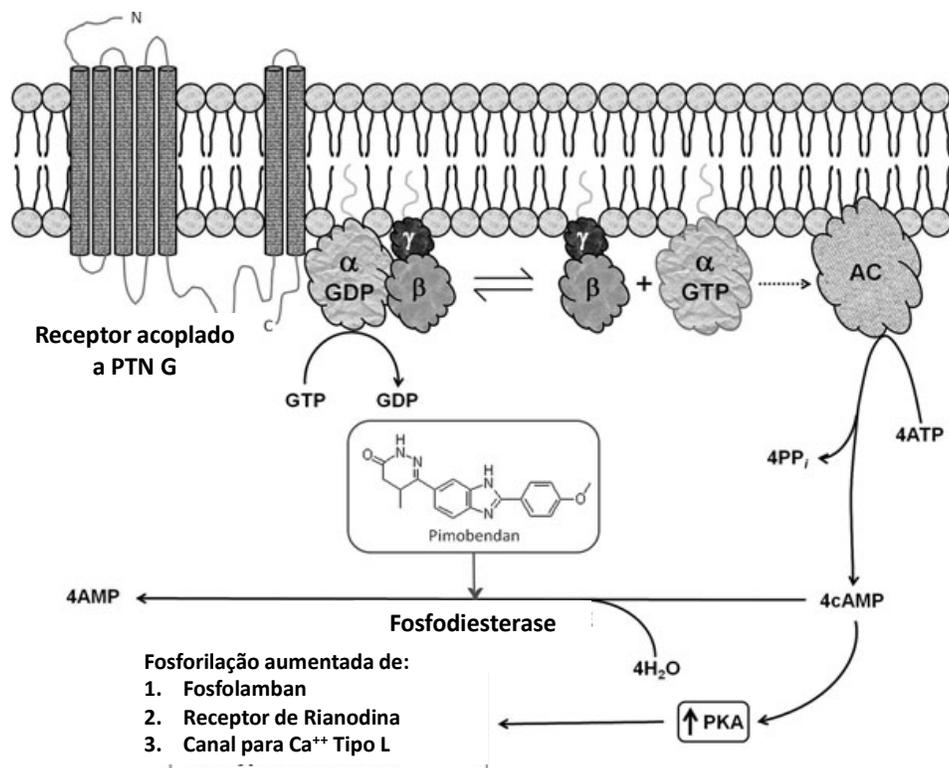


Figura 4. Esquema representativo dos efeitos produzidos pelo mecanismo de ação intracelular do fármaco Pimobendan agindo na inibição da enzima fosfodiesterase nas células musculares cardíacas. GTP – Guanosina Trifosfato; GDP – Guanosina Difosfato; AC – Adenilato Ciclase; ATP – Adenosina Trifosfato; cAMP – Monofosfato cíclico de Adenosina; PKA – Proteína Quinase. Modificado de Boyle e Leech (2012).

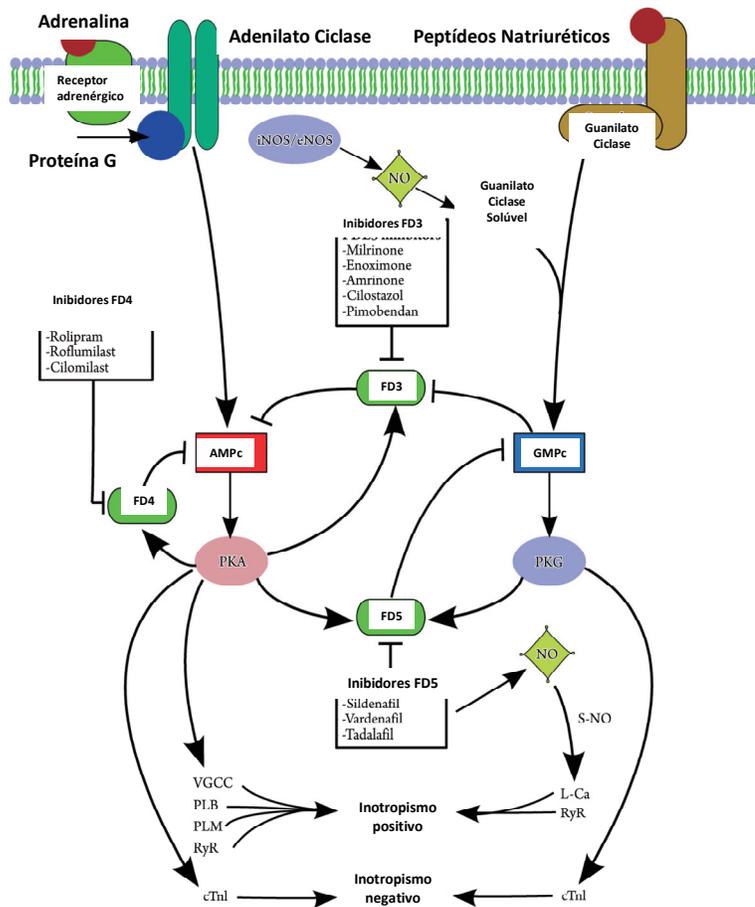


Figura 5. Esquema representativo dos inibidores de fosfodiesterases (PDEs) e sinalização contrátil no cardiomiócito. PDEs modulam a ativação cruzada e a sinalização de feedback através do cAMP, cGMP e suas quinases associadas. PDE3, 4 e 5 são fosforiladas e ativadas por proteína quinase A (PKA), enquanto a PDE5 é também fosforilada pela proteína quinase G (PKG). Esta cascata de sinalização influencia a atividade de PKA e PKG, as quais fosforilam e modulam efetores finais da contratilidade do miócito. Inibição de PDE3, 4 e 5 nesse sistema por conseguinte afeta a contratilidade. Em particular, a inibição de PDE3 ou PDE4 pode aumentar os níveis de cAMP e resultar em contração aprimorada enquanto os efeitos contrários de inibidores da PDE5 podem ser dose dependente devido a efeitos de ativação cruzada mediada por PDE3. VGCC = Canal para cálcio voltagem dependente; PLB = Fosfolambam; RyR = Receptor Ryanodina; cTnl = Troponina I cardíaca; L-Ca = Canal para cálcio tipo L. Modificado de Rao e Xi (2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais Estudados e Grupos Experimentais

Este estudo foi avaliado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob Protocolo Nº 9932141015. Para realização desse estudo foram utilizados 37 cães adultos, machos (n= 13) e fêmeas (n= 24), de diferentes raças, com idades entre 03 a 14 anos, divididos aleatoriamente em três grupos experimentais:

- Grupo I - CONT (animais sadios – n = 15), não submetidos a qualquer tipo de terapia farmacológica.
- Grupo II - CTP (animais portadores de insuficiência cardíaca – n = 15), submetidos à “terapia farmacológica padrão” como descrito a seguir para insuficiência cardíaca.
- Grupo III – CTP + Pimo (animais portadores de insuficiência cardíaca – n = 07), submetidos à terapia padrão em adição com o fármaco inodilatador Pimobendan.

O estudo foi randomizado e Multicêntrico e se realizou através da participação de cães atendidos nos ambulatórios da Policlínica Escola de Pequenos Animais do Centro Universitário de Barra Mansa (Figura 6); na Clínica Veterinária Clinição situada no município de Resende – RJ; no Centro Integrado de Saúde Animal (CISA), situado no Bairro de Campo Grande – RJ e no ambulatório de cardiologia do Hospital Veterinario de Pequenos Animais da UFRRJ. Os animais pertencentes aos Grupos II e III foram previamente diagnosticados como portadores de insuficiência cardíaca pelos veterinários de plantão destes ambulatórios, através do exame clínico, imagem radiográfica do tórax (posições DV e L/L) – constatação de presença de aumento do átrio esquerdo; e/ou Ecocardiograma (Modo Bidimensional) – avaliação das características do fluxo regurgitante e tamanho atrial esquerdo (relação aumento de átrio esquerdo/artéria aorta AE/AO > 1,2 e fibrose valvar) ; além de serem selecionados pelo critério de presença de sopro sistólico de regurgitação valvular mitral, descartando também a presença de doenças respiratórias. Posteriormente, autorizados por seus respectivos proprietários através de formulário, foram selecionados e submetidos ao exame sob as mesmas condições e na presença destes. O grupo controle (Grupo I) constituiu-se somente de animais clinicamente sadios, não apresentando qualquer condição de doença cardíaca.



Figura 6. Um dos ambulatórios utilizados para realização do exame Holter (Arquivo pessoal, Julho de 2013).

3.2 Exames Realizados

3.2.1 Histórico, anamnese e exame clínico dos animais

Ao primeiro contato, todos os animais incluídos nos diferentes grupos de estudo passaram por uma mesma avaliação clínica pelos veterinários que os atenderam, onde através da realização do histórico, anamnese e posterior exame físico foram coletadas principalmente as seguintes informações: idade e peso corporal; presença ou não de cansaço ou intolerância ao exercício físico; tosse e/ou engasgos; dispnéia ou taquipnéia; síncope; alterações de coloração de mucosas ou língua; apetite e marcha; além de suas frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal, tempo de preenchimento capilar, ascite, edema, pulso jugular e ausculta cardíaca e pulmonar. Após interpretação desses dados e exames complementares quando realizados, os pacientes foram enquadrados como saudáveis (não portadores de IC) ou portadores de insuficiência cardíaca e inseridos dentro dos grupos de ICC de acordo com a classificação de New York Heart Association (NYHA, 1994) e Atkins (2009).

3.2.2 Protocolo de avaliação do exame HOLTER

De acordo com Oliveira et al. (2011), o registro eletrocardiográfico com o exame de Holter é feito nas derivações precordiais (derivações unipolares torácicas que fornecem uma vista do coração no plano transversal), sendo os eletrodos posicionados lateralmente na parede torácica, após tricotomia da região, podendo ser de diferentes formas, dependendo do modelo do aparelho utilizado para este fim. Para aparelhos com cinco eletrodos, pode-se proceder tanto com a colocação precordial padrão quanto com a cruzada no tórax. Na precordial colocam-se os eletrodos branco e verde no hemitórax direito, com o marrom entre eles e o preto e o vermelho no hemitórax esquerdo. Para a posição cruzada no tórax, cruzam-se os eletrodos da seguinte forma: posição dorsolateral à esquerda (branco) e ventral à direita (vermelho), dorsolateral à direita (marrom) e ventral à esquerda (preto), sendo o verde fixado à direita, entre os outros dois eletrodos (vermelho e marrom).

No caso de aparelhos que apresentam quatro eletrodos, os locais da derivação precordial padrão do exame de eletrocardiografia convencional foram adaptados para o Holter da seguinte maneira: eletrodo vermelho do Holter na posição V2, preto em V4 com o laranja entre eles, no hemitórax esquerdo, e o branco em rV2, no hemitórax direito.

O monitor do Holter pode ser acomodado no dorso do animal, quando fixado com faixas, ou no interior de um bolso, quando utilizado colete próprio. Em alguns casos, o aparelho também pode ser colocado e fixado próximo ao animal submetido ao exame. Apesar de essa situação não simular uma condição normal do exame, esse ainda é capaz de fornecer muito mais informações do que o eletrocardiograma convencional (PETRIE, 2005).

Em nosso estudo, os animais foram direcionados ao ambulatório de ambas as Clínicas Veterinárias citadas anteriormente e mantidos neste ambiente (em cima das mesas de atendimento clínico), por um período de 10 minutos para adaptação (Figura 7). Após esse período, foram submetidos à tricotomia do tórax para conexão dos quatro eletrodos do aparelho CardioMapa (Cardios Sistemas Coml. Indl. Ltda – São Paulo – SP), posicionados na parede do tórax de acordo com Oliveira et al. (2011) (Figura 8). Após a inserção dos eletrodos, os pacientes foram mantidos dessa maneira por mais um período de cinco minutos antes do início do exame, para nova adaptação (Figura 9).

Esse modelo de aparelho de Holter é composto por um conector para conexão exclusiva com o CardioMapa e quatro fios para conexão no paciente, através dos eletrodos. Foi então preconizada a técnica de implantação dos quatro eletrodos na pele da região torácica adaptada como descrito no manual do usuário do aparelho. Os eletrodos foram fixados no

tórax dos animais da seguinte forma: vermelho (xifóide); branco (manúbrio); preto (hemitórax esquerdo) e verde (hemitórax direito) (Figura 8).

O monitor de exame foi acomodado, fixado e mantido em cima da mesa de atendimento clínico próximo ao paciente, sendo que cada exame teve duração de 30 minutos corridos (ZHOU et al. 2009), estando sempre o proprietário destes pacientes localizados ao seu lado. Todos os animais foram rigorosamente avaliados no mesmo período do dia e em condições semelhantes, para obter orientação coerente e magnitude dos traçados do exame cardíaco.



Figura 7. Animal em período de adaptação ao ambiente antes da realização do exame Holter (Arquivo pessoal, Julho de 2013).



Figura 8. Inserção dos eletrodos cardíacos após tricotomia e limpeza da pele para início da realização do exame Holter. Eletrodo vermelho (xifóide); branco (manúbrio); preto (hemitórax esquerdo) e verde (hemitórax direito) (Arquivo pessoal, Julho de 2013).



Figura 9. Exame Holter em curso (Arquivo pessoal, Julho de 2013).

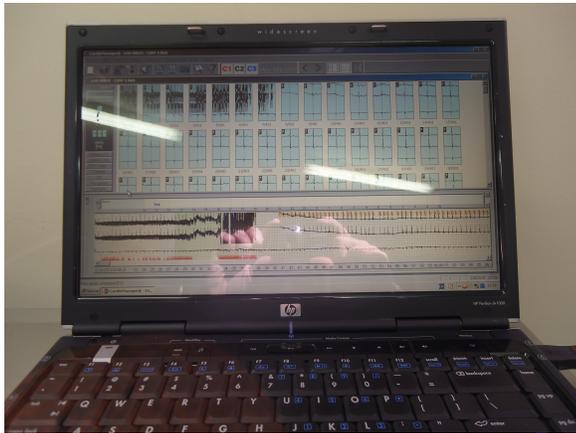


Figura 10. Representação dos dados do exame Holter em computador obtidos através de software próprio (Arquivo pessoal, Julho de 2013).

3.2.3 Parâmetros avaliados no exame Holter

Os parâmetros do exame de HOLTER estudados foram: frequência cardíaca mínima; frequência cardíaca média; frequência cardíaca máxima, N° QRS e a VFC no domínio do tempo e frequência, de acordo com os relatos de Cavalcanti et al. 2009 e Oliveira et al. 2011.

No domínio do tempo foram avaliados os seguintes valores: NN médio, SDNN, SDANN, SDNN índice, rMSSD e pNN50.

No domínio da frequência foram avaliados os seguintes valores: Fc (Frequência cardíaca); HF (frequência alta); LF (frequência baixa); VLF (frequência muito baixa) e a razão entre os componentes LF e HF (LF/HF) (OLIVEIRA et al. 2011).

Os dados foram analisados utilizando um programa específico de computação (Cardio Smart Professional CS 540, Cardios – São Paulo – Brasil). Na análise da VFC são utilizados somente intervalos normais, excluindo-se das gravações, os intervalos anormais. Este programa realizou uma análise espectral do sinal da frequência cardíaca pela aplicação da Transformação Rápida de Fourier sobre sucessivas e contínuas sequências de 256 pontos do sinal da frequência cardíaca reamostradas em 1 Hz. A potência total foi calculada da integração do poder espectral dentro da banda de frequência HF (0,15 a 0,4 Hz), LF (0,04 a 0,15 Hz) e VLF (0,003 a 0,04 Hz). A relação de potência HF/LF foi também calculada da relação de potências de cada ritmo, dadas em unidades normalizadas e as bandas também foram selecionadas segundo a metodologia utilizada por Oliveira et al. (2014).

3.3 Terapia Farmacológica Aplicada aos Grupos

A terapia farmacológica instituída aos cães cardiopatas pertencentes ao grupo CTP foi baseado em uma “terapia convencional” para insuficiência cardíaca, com uso de dilatadores (inibidores da enzima conversora de angiotensina – iECA – Benazepril 0,5 mg/Kg SID – Lotensin® - Novartis); diuréticos (Furosemida 2 a 4 mg/kg BID ou TID - Lasix® - Sanofi) e digitálicos (Digoxina 0,005 a 0,011 mg/Kg BID - Digoxina® -GSK), como preconizado por TILLEY et al. (2007).

Para os animais do grupo CTP + Pimo, foi associado ao tratamento padrão à droga inodilatadora Pimobendan na dose de 0,25 mg/Kg BID (Produto Manipulado – DrogaVet), como descrito por Suzuki et al. (2011). Além disso, para todos os pacientes portadores de cardiopatia, quando possível, foi indicado instituir dieta hipossódica através de rações de linhas terapêuticas específicas (Cardiac Canine® - Royal Canin).

Tanto para os animais do grupo CTP quanto para os animais do grupo CTP + Pimo foi obedecido um prazo de no mínimo trinta dias do início da terapia farmacológica com qualquer uma das drogas citados anteriormente, para que se pudesse realizar o único traçado eletrocardiográfico através da técnica do exame Holter.

3.4 Análise Estatística

A análise estatística foi utilizada para a comparação dos resultados apresentados pelos grupos experimentais. Utilizou-se a análise da variância através do Teste One Way ANOVA e Pós-Teste de Bonferroni para comparação entre grupos. Em todos os testes, o grau mínimo de significância considerado foi de 95% ($P < 0.05$).

Todos os cálculos foram realizados no computador, utilizando para tanto, o programa GraphPad Prism (Versão 4.0, Califórnia, EUA). Os valores foram representados como média \pm s.e.m (desvio padrão da média).

4 RESULTADOS

4.1 Animais Estudados

Os cães pertencentes ao grupo controle (CONT) apresentaram-se totalmente sadios durante a avaliação clínica, não apresentando portando qualquer sinal que pudesse sugerir um estado de insuficiência cardíaca. Estavam em bom estado geral, mucosas e auscultação pulmonar e cardíaca normais. Em relação à faixa etária destes animais, esta se apresentou entre 3 e 10 anos de vida e média de 4,34 anos. Dos quinze cães utilizados, 6 eram machos e 9 eram fêmeas. O peso esteve entre 5 e 15 Kg, com média de 9,40 Kg. São pertencentes às seguintes raças: Poodle (2); SRD (6); Border Collie (1); Cocker Spainel (3); Fox (1); Dashchund (1) e Red Hiller (1) (Quadro 7).

Os cães inseridos no grupo cardiopata submetidos à terapia padrão (CTP) durante a avaliação clínica apresentavam sinais clínicos de insuficiência cardíaca como tosse, cansaço em repouso ou intolerância ao exercício, tempos de preenchimento capilar normal ou levemente aumentados, mucosas normais ou cianóticas, ausculta pulmonar com leves a moderadas crepitações difusas e ausculta cardíaca de todos apresentava sopro de regurgitação meso a holossistólico de graus variáveis (III - n=08; IV - n=06 e V - n=01) em ápice esquerdo (Figura 11), com ponto de máxima intensidade em foco mitral, irradiando dorsal e cranial e para hemitórax direito. Três eram machos e 12 eram fêmeas. Apresentaram peso entre 2,0 e 17 Kg, com média de 5,30 Kg. Apresentaram faixa etária entre 5 e 14 anos, com média de 10,33 anos de vida. São pertencentes às seguintes raças: Poodle (7); Pincher (3); York Shire (2); SRD (2); Cocker Spainel (1) (Quadro 8).

Os cães inseridos no grupo cardiopata submetidos à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan (CTP + Pimo) durante a avaliação clínica também apresentavam sinais clínicos de insuficiência cardíaca congestiva, como cansaço ou cansaço excessivo até mesmo em repouso, tosse, perda de peso, ortopnéia, taquipnéia, letargia, mucosas pálidas ou cianóticas, tempo de perfusão capilar acima de dois segundos, ausculta pulmonar com crepitações moderadas a intensas e ausculta cardíaca presença de sopro de regurgitação holossistólico classificados nos seguintes graus de intensidade: III - n=1; IV - n=3; V - n=2 e VI - n=1 em ápice esquerdo (Figura 11). Eram 4 machos e 3 fêmeas. Apresentaram peso entre 3,6 e 20 Kg, com média de 8,95 Kg. Apresentaram faixa etária entre 10 a 14 anos, com média de 11,86 anos de vida. São pertencentes às seguintes raças: SRD (2); Poodle (4) e Pincher (1) (Quadro 9).

Todos os animais cardiopatas portadores de doença valvular submetidos à terapia convencional e/ou associada ao Pimobendan (Grupos CTP e CTP + Pimo), foram tratados farmacologicamente por um período mínimo de 30 dias até apresentarem-se clinicamente estabilizados, para posterior avaliação de seus traçados eletrocardiográficos através da metodologia do exame Holter.

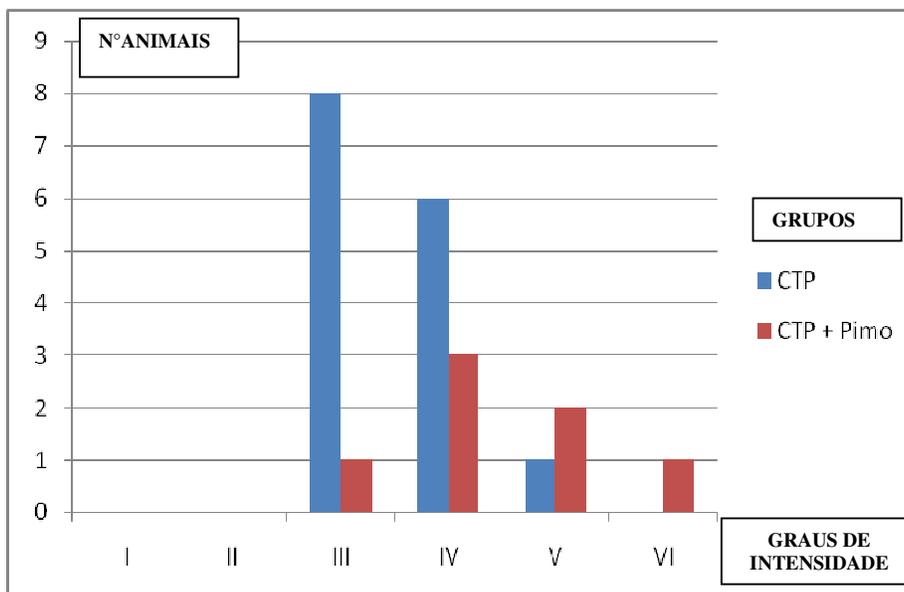


Figura 11. Representação do estadiamento dos sopros cardíacos dos animais cardiopatas por doença valvular inseridos nos grupos CTP e CTP + Pimo.

4.2 Exame Clínico e Classificação da IC nos Cães Cardiopatas

De acordo com o histórico e os achados clínicos observados durante a primeira avaliação dos pacientes dos Grupos II e III, de uma maneira geral, todos os cães cardiopatas foram considerados portadores de doença valvular (DV) e foram enquadrados da seguinte maneira em relação à Classificação de Insuficiência Cardíaca de acordo com a NYHA (New York Heart Association - 1994) e de acordo com ATKINS et al. (2009), (Quadros 8 e 9 e Figuras 12 e 13).

Quadro 7. Apresentação de características dos cães sadios pertencentes ao grupo Controle (CONT).

Animal	Raça	Idade (anos)	Peso (Kg)	Sexo	Fc Pré-Holter (bpm)
I	SRD	03	09	M	120
II	SRD	10	12	F	100
III	SRD	05	07	F	110
IV	SRD	10	05	F	120
V	Border Collie	03	12	M	100
VI	Red Hiller	03	15	M	120
VII	Cocker	03	12	F	120
VIII	Cocker	03	10	M	130
IX	SRD	03	10	F	110
X	Cocker	03	09	F	120
XI	SRD	4,5	5,5	F	116
XII	Poodle	3,6	10	M	130
XIII	Poodle	03	08	M	130
XIV	Fox	03	07	F	100
XV	Dashchund	05	9,6	F	120

Quadro 8. Apresentação de características dos cães pertencentes ao Grupo Cardiopata submetidos à terapia padrão (CTP) e sua respectiva classificação de Insuficiência cardíaca de acordo com New York Heart Association e ATKINS et al. (2009).

Animal	Raça	Idade (anos)	Peso (Kg)	Sexo	Fc Pré-Holter (bpm)	Doença Cardíaca	Classificação IC (NYHA)	Atkins et al. (2009)
I	Poodle	12	6,0	F	110	DV	III	Estágio C
II	Poodle	07	5,0	M	120	DV	II	Estágio C
III	Poodle	12	4,5	F	120	DV	III	Estágio C
IV	Poodle	10	4,0	F	100	DV	II	Estágio C
V	Poodle	13	4,0	M	130	DV	III	Estágio C
VI	York Shire	09	2,0	F	100	DV	III	Estágio C
VII	Pincher	09	3,5	F	100	DV	II	Estágio C
VIII	Pincher	08	3,8	F	120	DV	III	Estágio C
IX	York Shire	13	3,0	F	105	DV	III	Estágio C
X	Poodle	10	3,8	F	120	DV	III	Estágio C
XI	SRD	11	12	F	90	DV	II	Estágio C
XII	Cocker	08	17	F	100	DV	II	Estágio C
XIII	Poodle	14	4,5	F	110	DV	III	Estágio C
XIV	Pincher	12	2,2	F	120	DV	III	Estágio C
XV	SRD	09	4,5	M	100	DV	III	Estágio C

Quadro 9. Apresentação de características dos cães pertencentes ao Grupo Cardiopata submetido à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan (CTP + Pimo) e sua respectiva classificação de Insuficiência cardíaca de acordo com New York Heart Association (1994) e de acordo com ATKINS et al. (2009).

Animal	Raça	Idade (anos)	Peso (Kg)	Sexo	Fc Pré-Holter (bpm)	Doença Cardíaca	Classificação IC (NYHA)	Atkins et al. (2009)
I	SRD	13	20,0	M	140	DV	III	Estágio D
II	SRD	12	14,0	M	170	DV	IV	Estágio D
III	Poodle	14	6,5	F	210	DV	IV	Estágio D
IV	Poodle	11	4,8	F	125	DV	III	Estágio D
V	Poodle	10	6,8	M	116	DV	III	Estágio D
VI	Pincher	11	3,6	F	155	DV	III	Estágio D
VII	Poodle	12	7,0	M	120	DV	III	Estágio D

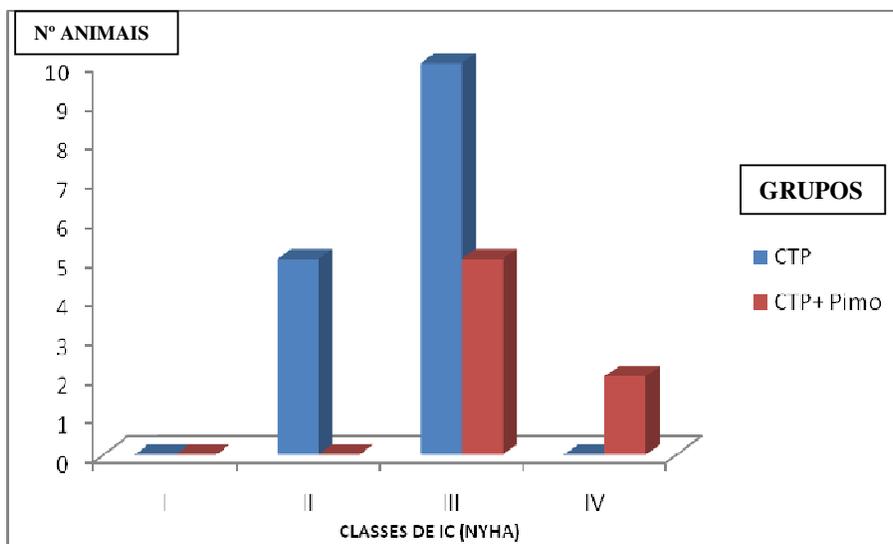


Figura 12. Apresentação gráfica dos cães dos grupos cardiopatas (CTP – cardiopatas submetidos à terapia padrão e CTP + Pimo – cardiopatas submetidos à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan), de acordo com seu enquadramento nas diferentes classes de insuficiência cardíaca de acordo com a classificação de New York Heart Association (NYHA).

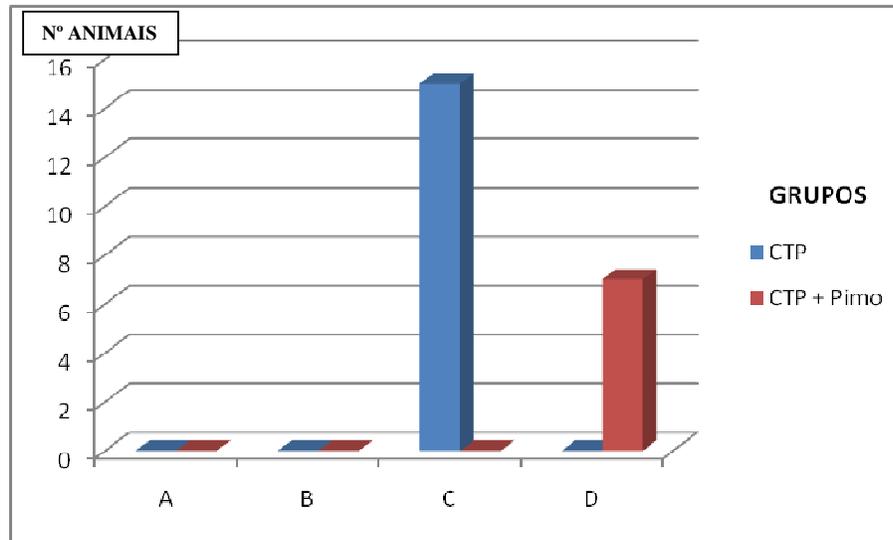


Figura 13. Apresentação gráfica dos cães dos grupos cardiopatas (CTP – cardiopatas submetidos à terapia padrão e CTP + Pimo – cardiopatas submetidos à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan), de acordo com seu enquadramento nos diferentes estágios (A, B, C e D) de classificação de doença e insuficiência cardíaca de acordo com “Orientações para o Diagnóstico e Tratamento da Doença Cardíaca Valvular Crônica Canina” (ATKINS, 2009).

A frequência cardíaca Pré-Holter foi avaliada em todos os animais dos diferentes grupos através da técnica de ausculta, assim que estes foram colocados sobre as mesas dos ambulatórios, antes do período de adaptação como descrito anteriormente. Os animais dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo apresentaram os seguintes valores médios respectivamente: $116,4 \pm 2,69$; $107,7 \pm 3,54$ e $148 \pm 12,70$. Os cães do grupo CTP não apresentaram valores estatisticamente significantes de frequência cardíaca quando comparados aos cães do grupo CONT ($P > 0,05$). Já os animais do grupo CTP + Pimo apresentaram valores significativamente superiores quando comparados aos grupos CONT e CTP ($P < 0,05$).

4.2.1 Limitações experimentais

Como na grande maioria dos estudos clínicos realizados em cães e publicados na literatura científica mundial, podemos relatar que encontramos uma série de limitações experimentais para a realização de nosso trabalho, destacando-se: a) utilização de pacientes de diversas raças – cães portadores de insuficiência cardíaca por doença valvular geralmente se enquadram em idades mais avançadas e apresentam-se entre diversas raças de pequeno porte (MUZZI et al. 2009; ATKINS et al. 2009; PETRIC, 2015). Além disso, existe também uma verdadeira escassez de trabalhos que apresentem valores de referência sobre parâmetros cardiovasculares quando realizados exclusivamente em raças específicas, ou quando estes são comparados em diferentes estágios de vida desses cães; b) utilização de pacientes de ambos os gêneros (machos e fêmeas) – os trabalhos publicados também de uma maneira geral descrevem seus resultados através da obtenção de dados entre machos e fêmeas em diferentes idades (OLIVEIRA et al. 2014; MUZZI et al. 2009; OLIVEIRA et al. 2009; CAVALCANTI et al. 2009). Tal fato, possivelmente seja corroborado pela grande dificuldade da aquisição e

apresentação simultânea específica de sinais e/ou estágios clínicos apresentados por estes pacientes em um número favorável à significância estatística; c) bandas de frequências da VFC – de uma maneira geral, como também utilizado em nosso estudo, os aparelhos de Holter e seus respectivos programas de computador disponíveis no mercado nacional e responsáveis pelas análises dos resultados obtidos, são aparelhos que utilizam bandas de frequências padronizadas para a espécie humana (Cardio Smart Professional CS 540; Cardiolight®) (OLIVEIRA et al. 2014; AMPUERO, 2013); d) tempo do traçado eletrocardiográfico – a duração do traçado eletrocardiográfico obtido através da técnica de Holter apresenta-se bastante diversificada na literatura (24 horas a períodos menores). De uma maneira geral, os estudos clínicos preconizam a utilização de colete específico para adaptação do aparelho ao corpo do animal, possibilitando a gravação contínua em 24 horas com o animal inserido em sua rotina diária normal (OLIVEIRA et al. 2014) ou mantidos em hospitais veterinários (AMPUERO, 2013). Em estudos experimentais, como nas alterações de padrões cardiovasculares por indução de insuficiência cardíaca - por exemplo, na técnica de produção de infarto, ou por aumentarem severamente a frequência cardíaca (indução de taquicardia) - autores optam pela utilização de traçados em tempos menores, como metades ou quartos de hora (ZHOU et al. 2009), principalmente com o objetivo de evitarem tendenciosidades e/ou variações, ocasionadas por exemplo, pela participação do sistema humoral. Em nosso trabalho, a maior parte dos pacientes foi apresentada por cães de raças bem pequenas e muito leves, o que praticamente inviabilizou a utilização do colete. Além disso, por ter se tratado de um estudo multicêntrico, a necessidade de acompanhamento dos respectivos proprietários aos pacientes nos ambulatorios e a realização de um traçado eletrocardiográfico padrão e uniforme em um curto período de tempo, foi de fundamental importância.

4.3 Exame Holter

4.3.1 Frequência cardíaca mínima (Fc min)

Os valores médios das frequências cardíacas mínimas dos animais dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo foram de: $85,27 \pm 7,06$; $100,8 \pm 8,22$ e $103,0 \pm 7,86$ respectivamente (Anexo I); (Figura 14). Os animais dos grupos CTP e CTP + Pimo não apresentaram valores médios estatisticamente significantes quando comparados entre si e aos animais do grupo CONT ($P > 0,05$).

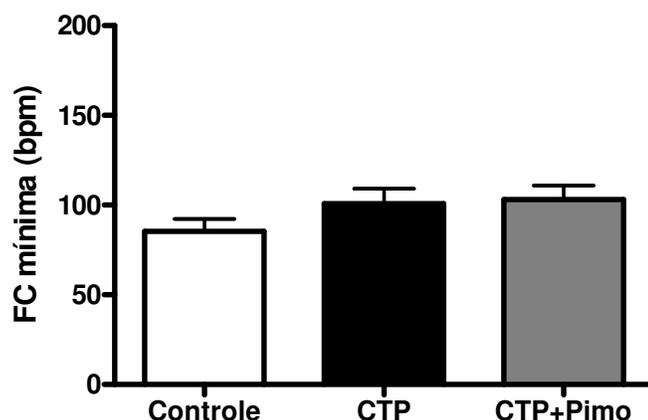


Figura 14. Valores médios das frequências cardíacas mínimas dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

4.3.2 Frequência cardíaca média (Fc med)

Os valores médios das frequências cardíacas médias dos animais dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo foram de: $120,5 \pm 8,45$, $134,6 \pm 10,79$ e $145 \pm 16,05$ respectivamente (Anexo II); (Figura 15). Os animais pertencentes aos grupos CTP e CTP + Pimo não apresentaram valores médios estatisticamente significantes quando comparados aos cães do grupo CONT ($P > 0,05$). Também não houve significância estatística quando comparamos os valores entre os grupos de cães cardiopatas ($P > 0,05$).

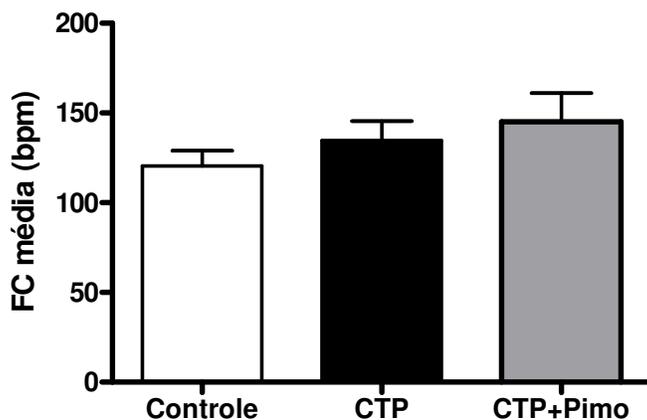


Figura 15. Valores médios das frequências cardíacas médias dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

4.3.3 Frequência cardíaca máxima (Fc máx)

Os valores médios das frequências cardíacas máximas dos animais dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo foram de: $172,9 \pm 11,35$; $172,7 \pm 10,8$ e $177,5 \pm 19,58$ respectivamente (Anexo II); (Figura 16). Não houve diferença significativa entre os valores da frequência cardíaca máxima entre os animais de todos os grupos durante o período de estudo ($P > 0,05$).

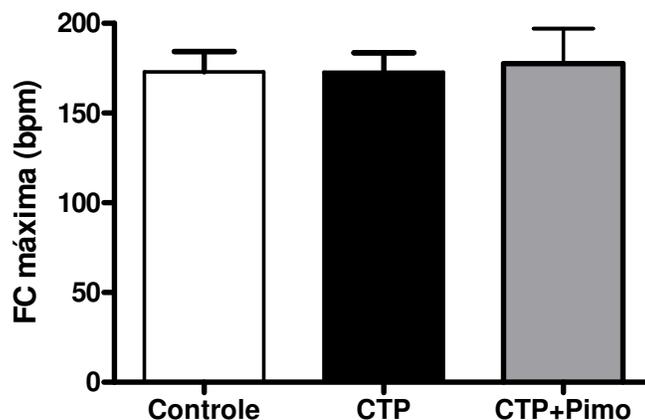


Figura 16. Valores médios das frequências cardíacas máximas dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

4.3.4 Número de QRS

Os valores médios dos números de complexos QRS ocorridos no traçado eletrocardiográfico dos animais dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo foram de: $3.217 \pm 230,4$; $3.630 \pm 274,6$ e $3.771 \pm 403,7$ respectivamente (Anexo I); (Figura 17). Os valores médios do número de QRS dos animais portadores de insuficiência cardíaca (grupos CTP e CTP + Pimo) não apresentaram significância estatística ($P > 0,05$) quando comparados aos cães do grupo CONT. Além disso, quando comparamos os valores médios entre os dois grupos cardiopatas, observamos que o tratamento com Pimobendan também não foi capaz de promover significância estatística ($P > 0,05$).

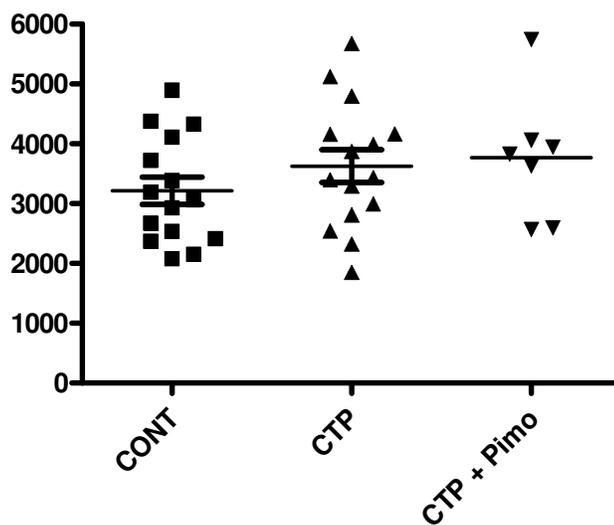


Figura 17. Valores médios dos números de complexos QRS dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

4.3.5 VFC no domínio do tempo

4.3.5.1 Número dos intervalos RR normais (NN's)

Os valores médios dos números dos intervalos RR normais do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: 2.714 ± 306.4 ; 2.892 ± 304.2 e $2.794 \pm 381,8$ respectivamente (Anexo II); (Figura 18). Os animais dos grupos cardiopatas apresentaram valores médios de número de intervalos RR normais sem diferença estatística em relação ao grupo CONT ($P > 0,05$). Os animais tratados com Pimobendan também não apresentaram valores significantes quando comparados ao outro grupo de cães cardiopatas ($P > 0,05$).

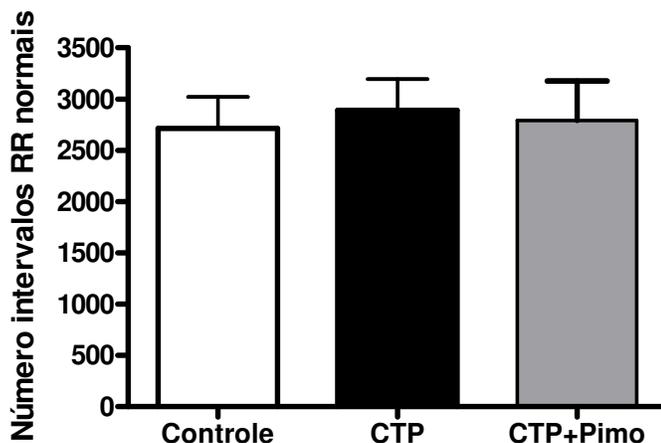


Figura 18. Valores médios dos números dos intervalos RR normais dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

4.3.5.2 Média de todos os intervalos RR normais (NN médio) (ms)

Os valores médios da média de todos os intervalos RR normais do exame dos animais dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo foram de: $554,9 \pm 39,01$; $455,5 \pm 30,02$ e $455,6 \pm 52,92$ respectivamente (Anexo II); (Figura 19). Os animais dos grupos CTP e CTP + Pimo mostraram valores médios sem diferença significativa quando comparados entre si e quando comparados aos cães que não apresentavam insuficiência cardíaca ($P > 0,05$).

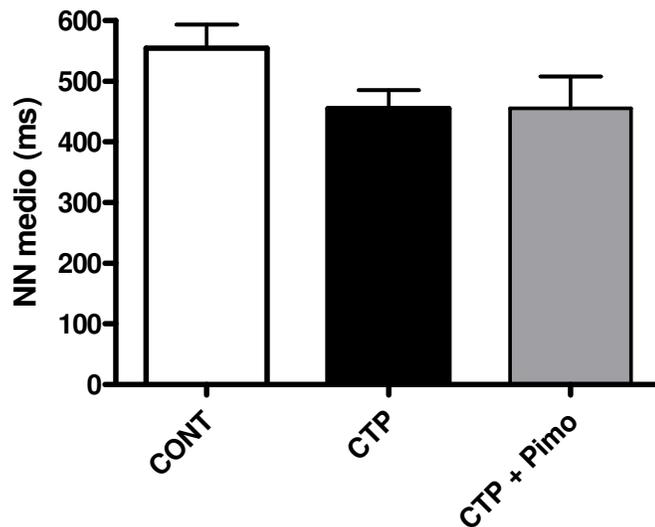


Figura 19. Valores médios da média de todos os intervalos RR normais dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

4.3.5.3 Desvios padrões de todos os intervalos RR normais (SDNN) (ms)

Os valores médios dos desvios padrões de todos os intervalos RR normais do exame dos animais dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo foram de: $109,6 \pm 18,38$; $68,87 \pm 9,82$ e $55,57 \pm 14,93$ respectivamente (Anexo II); (Figura 20). Os animais dos grupos CTP e CTP + Pimo apresentaram valores médios significativamente inferiores quando comparados aos animais do grupo CONT ($P < 0,05$). Porém, quando comparamos os cães do grupo tratado com o fármaco Pimobendan com o grupo cardiopata não tratado com tal fármaco, não observamos significância estatística ($P > 0,05$).

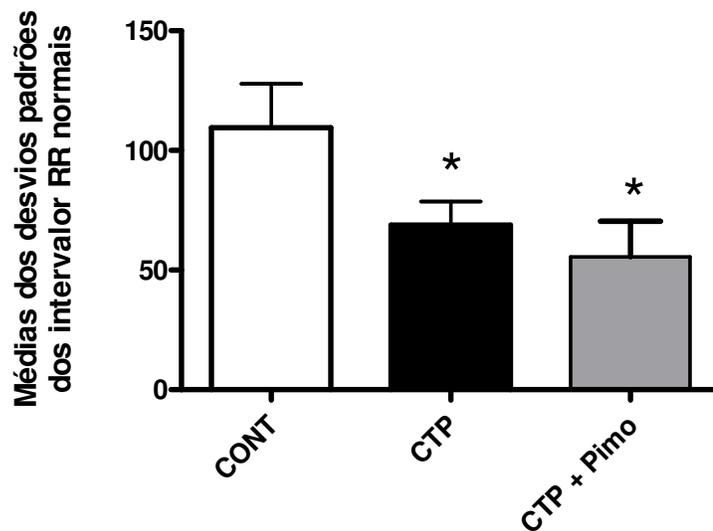


Figura 20. Valores médios dos desvios padrões de todos os intervalos RR normais dos cães dos grupos CONT, CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter. * $P < 0,05$ vs CONT.

4.3.5.4 Desvios padrões das médias dos intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos (SDANN) (ms)

Os valores médios dos desvios padrões das médias dos intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $33,53 \pm 6,75$; $21,64 \pm 4,66$ e $7,42 \pm 1,71$ respectivamente (Anexo II); (Figura 21). Os cães pertencentes aos dois grupos cardiopatas apresentaram valores estatisticamente inferiores quando comparados aos animais do grupo CONT ($P < 0,05$). Quando comparamos entre si os valores médios dos pacientes dos grupos CTP e CTP + Pimo, não houve significância estatística ($P > 0,05$).

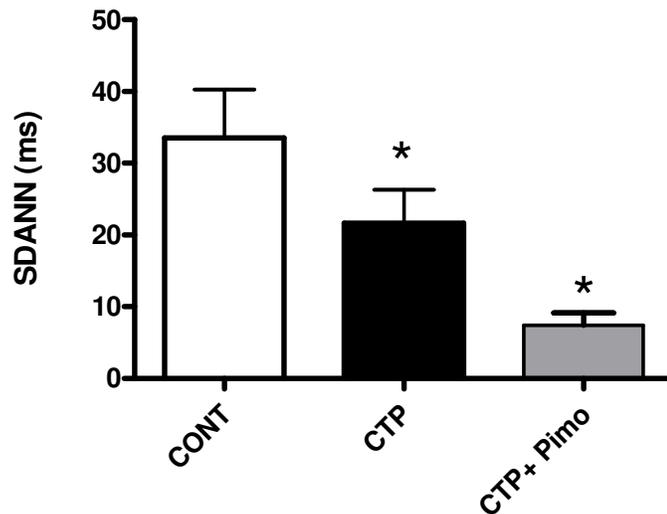


Figura 21. Valores médios dos desvios padrões das médias dos intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter. * $P < 0,05$ vs CONT.

4.3.5.5 Médias dos desvios padrões calculados para intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos (SDNNIDX) (ms)

Os valores médios das médias dos desvios padrões calculados para intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $101,1 \pm 17,69$; $67,36 \pm 9,86$ e $51,57 \pm 16,20$ respectivamente (Anexo II); (Figura 22). Os animais dos grupos CTP e CTP + Pimo apresentaram valores inferiores quando comparados aos animais do grupo CONT, com significância estatística ($P < 0,05$). Não houve comprovação estatística na diferença entre os valores médios desse parâmetro quando comparamos somente os cães cardiopatas ($P > 0,05$).

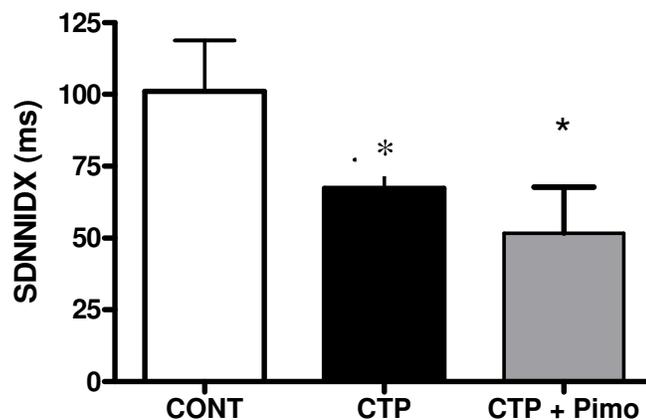


Figura 22. Valores médios das médias dos desvios padrões calculados para intervalos RR normais medidos a cada cinco minutos dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no Exame de Holter. * $P < 0,05$ vs CONT.

4.3.5.6 Raízes quadradas das médias da soma das diferenças de quadrados de intervalos RR normais adjacentes do exame todo (RMSSD) (ms)

Os valores médios das raízes quadradas das médias da soma das diferenças de quadrados de intervalos RR normais adjacentes do exame todo dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $112,9 \pm 22,61$; $72,53 \pm 13,72$ e $62,14 \pm 25,85$ respectivamente (Anexo II); (Figura 23). Os animais dos grupos CTP e CTP + Pimo apresentaram valores estatisticamente inferiores quando comparados aos animais do grupo CONT ($P < 0,05$). Os valores médios dos animais do grupo CTP + Pimo quando comparados aos do grupo CTP, não apresentaram significância estatística ($P > 0,05$).

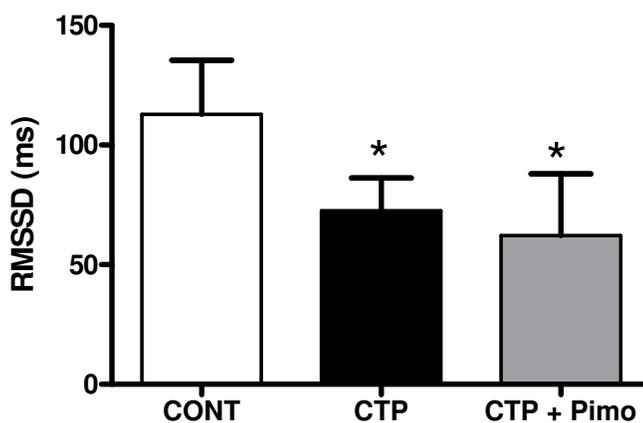


Figura 23. Valores médios das raízes quadradas das médias da soma das diferenças de quadrados de intervalos RR normais adjacentes dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter. * $P < 0,05$ vs CONT.

4.3.5.7 Porcentagem de diferenças maiores que 50 milissegundos entre intervalos RR normais adjacentes do exame todo (pNN50)

Os valores médios da porcentagem de diferenças maiores que 50 ms entre intervalos RR normais adjacentes do exame todo dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $42,85 \pm 7,36$; $29,78 \pm 6,68$ e $22,37 \pm 10,62$ respectivamente (Anexo II); (Figura 24). Os animais dos grupos CTP e CTP + Pimo apresentaram valores estatisticamente inferiores quando comparados aos animais do grupo CONT ($P < 0,05$). Os valores médios dos animais do grupo CTP + Pimo quando comparados aos do grupo CTP não apresentaram significância ($P > 0,05$).

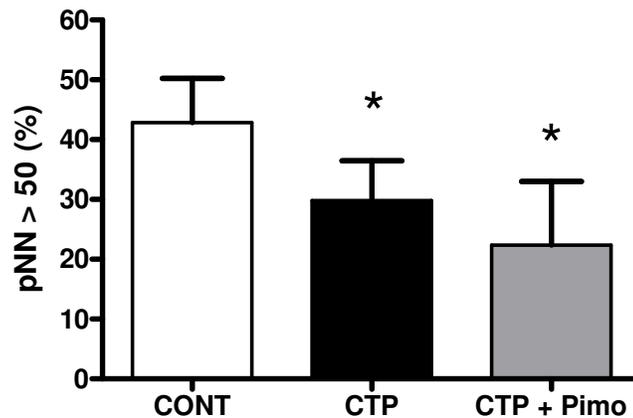


Figura 24. Valores médios da porcentagem de diferenças maiores que 50 ms entre intervalos RR normais adjacentes dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter. * P < 0,05 vs CONT.

4.3.6 VFC no domínio da frequência

De acordo com Oliveira et al (2011), as principais variáveis analisadas em estudos de cães submetidos à avaliação da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) são: HF (alta frequência); LF (baixa frequência); VLF (muito baixa frequência); ULF (ultrabaixa frequência) e a razão entre os componentes LF e HF (LF/HF).

4.3.6.1 Fc (bpm)

Os valores médios da frequência cardíaca do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $129,9 \pm 8,90$; $144,9 \pm 10,86$ e $143,7 \pm 15,16$ respectivamente (Anexo III); (Figura 25). Os animais dos grupos cardiopatas apresentaram valores sem significância estatística quando comparados aos animais do grupo CONT ($P > 0,05$). Os valores médios dos cães dos grupos CTP e CTP + Pimo mostraram-se praticamente idênticos durante o período de estudo. Estes dados corroboram aqueles de frequência cardíaca obtidos na fase do estudo onde se avaliou a VFC no domínio do tempo.

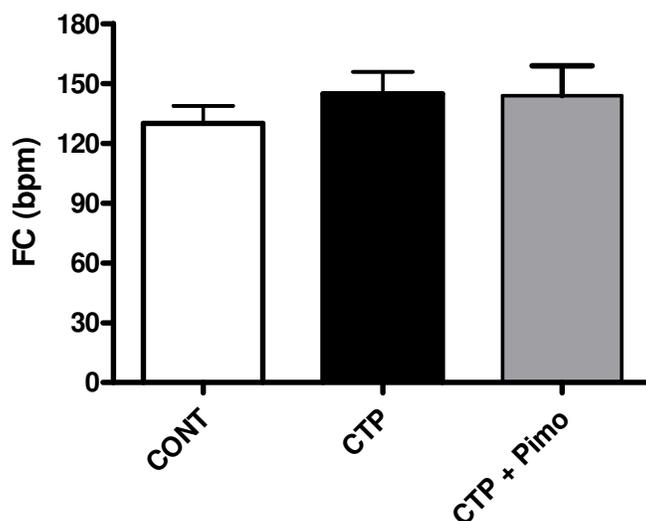


Figura 25. Valores médios das frequências cardíacas dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter. * $P < 0,05$ vs CONT.

4.3.6.2 Potência Total (ms^2)

Os valores médios da potência total do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $3.615 \pm 640,8$; $1.698 \pm 412,9$ e $1371 \pm 374,1$ respectivamente (Anexo III); (Figura 26). Os animais dos grupos CTP e CTP + Pimo apresentaram valores significativamente inferiores quando comparados aos animais do grupo CONT ($P < 0,05$). Em relação aos cães cardiopatas, aqueles tratados com Pimobendan não mostraram valores médios estatisticamente significantes quando comparados aos não tratados com esse fármaco ($P > 0,05$).

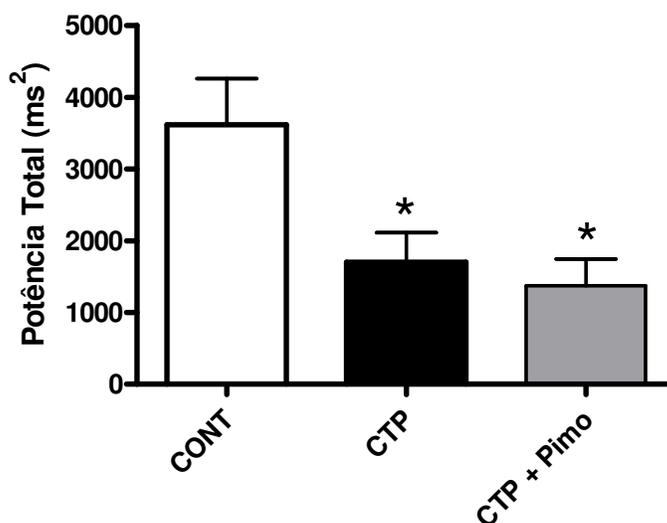


Figura 26. Valores médios das potências totais dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter. * $P < 0,05$ vs CONT.

4.3.6.3 Potência VLF (ms^2)

Os valores médios da frequência muito baixa do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $1.474 \pm 316,9$; $416,7 \pm 153,5$ e $374,9 \pm 92,94$ respectivamente (Anexo III); (Figura 27). Os animais do grupo CTP e CTP + Pimo apresentaram valores estatisticamente inferiores em relação aos animais do grupo CONT ($P < 0,05$). Não houve significância estatística entre os valores dos animais dos grupos cardiopatas (Grupo II vs. Grupo III) quando comparados entre si ($P > 0,05$).

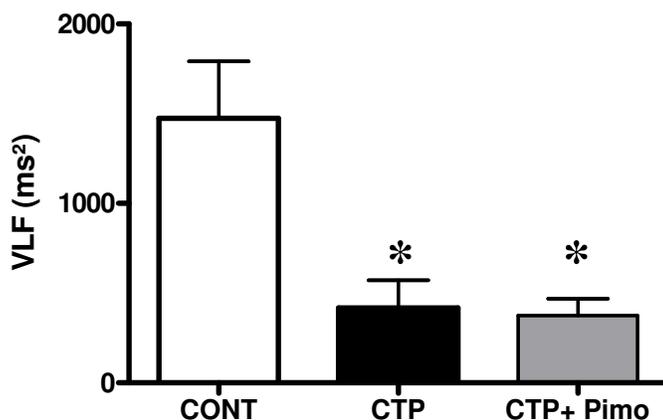


Figura 27. Valores médios das frequências muito baixas (VLF) dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter. * $P < 0,05$ vs CONT.

4.3.6.4 Potência LF (ms^2)

Os valores médios da frequência baixa do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $914,6 \pm 139,8$; $439,2 \pm 120,2$ e 1.026 ± 164 respectivamente (Anexo III); (Figura 28). Os animais do grupo CTP apresentaram valores estatisticamente inferiores quando comparados aos animais do grupo CONT ($P < 0,05$). Já os cães que receberam o fármaco Pimobendan (Grupo CTP + Pimo), mostraram valores superiores e com significância estatística quando comparados ao grupo dos outros cães cardiopatas (grupo CTP) ($P < 0,05$) e similares ao controle ($P > 0,05$).

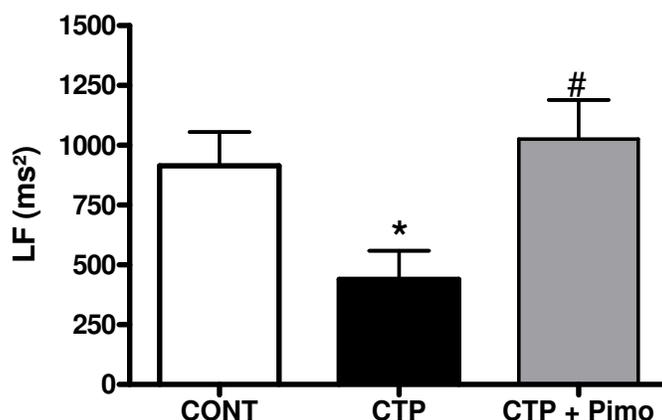


Figura 28. Valores médios das frequências baixas (LF) dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter. * $P < 0,05$ vs CONT e # $P < 0,05$ vs CTP.

4.3.6.4.1 Potência LF (un)

Os valores médios da frequência baixa em unidade normalizada do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $39,95 \pm 7,00$; $46,23 \pm 5,30$ e $58,91 \pm 8,20$ respectivamente (Anexo III); (Figura 29). Não houve nenhuma significância estatística quando comparamos nesse parâmetro os valores entre os cães cardiopatas e quando comparamos estes aos animais sadios ($P > 0,05$).

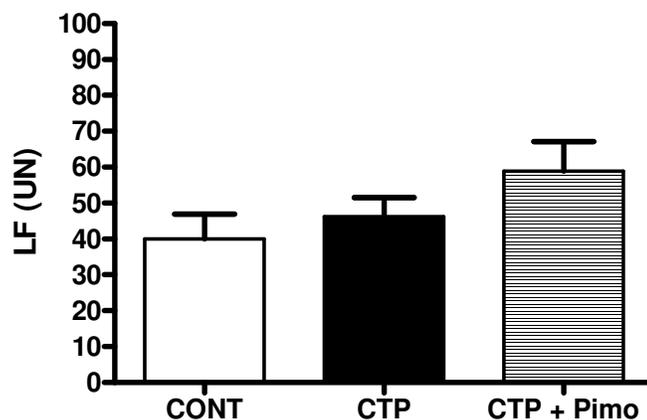


Figura 29. Valores médios das frequências baixas (LF) em unidade normalizada dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

4.3.6.5 Potência HF (ms²)

Os valores médios da frequência alta do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $1.242 \pm 345,2$; $842,2 \pm 244,7$ e $1.234 \pm 739,7$ respectivamente (Anexo III); (Figura 30). Os animais do grupo CTP não apresentaram valores significantes quando comparados aos cães do grupo CONT ($P > 0,05$). Além disso, os valores médios dos cães do grupo CTP + Pimo também não apresentaram significância estatística quando comparados aos outros cães cardiopatas que não receberam tratamento com Pimobendan ($P > 0,05$).

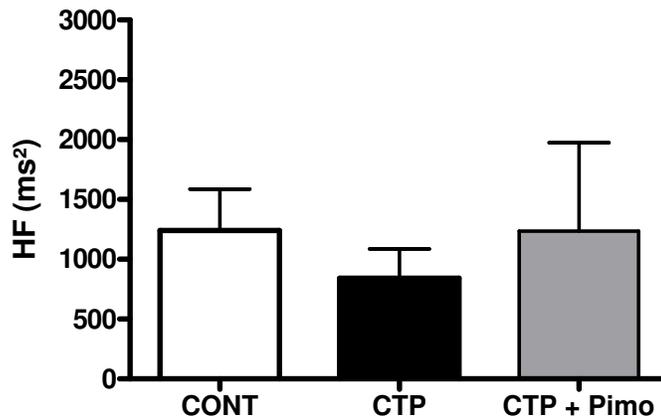


Figura 30. Valores médios das frequências altas (HF) dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

4.3.6.5.1 Potência HF (un)

Os valores médios da frequência alta em unidade normalizada do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $62,41 \pm 7,12$; $53,77 \pm 5,30$ e $41,09 \pm 8,20$ respectivamente (Anexo III); (Figura 31). Não houve nenhuma significância estatística quando comparamos nesse parâmetro os valores entre os cães cardiopatas que receberam terapia convencional e ou associada ao Pimobendan e também quando comparamos estes aos animais sadios ($P > 0,05$).

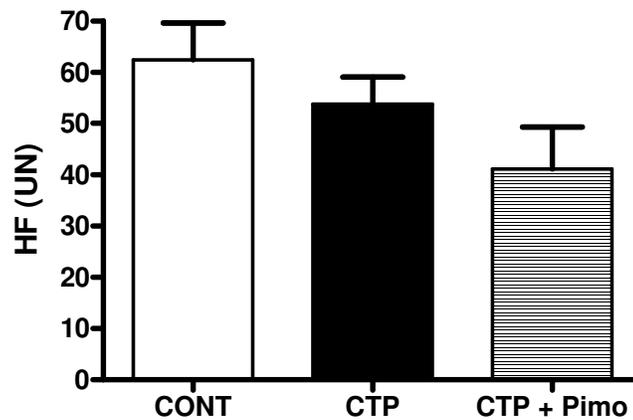


Figura 31. Valores médios das frequências altas (HF) em unidade normalizada dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter.

4.3.6.6 LF/HF

Os valores médios da razão entre os componentes LF e HF (baixa frequência e alta frequência) do exame dos animais dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo foram de: $0,7 \pm 0,04$; $0,50 \pm 0,05$ e $0,8 \pm 0,07$ respectivamente (Anexo III); (Figura 32). Os valores do grupo CTP mostraram-se significativamente superiores em relação ao grupo CONT ($P < 0,05$). Além disso, quando comparamos esses valores entre os grupos cardiopatas (CTP vs CTP + Pimo), observamos que os cães tratados com Pimobendami apresentaram valores significativamente superiores quando comparados aos cardiopatas do grupo CTP ($P < 0,05$).

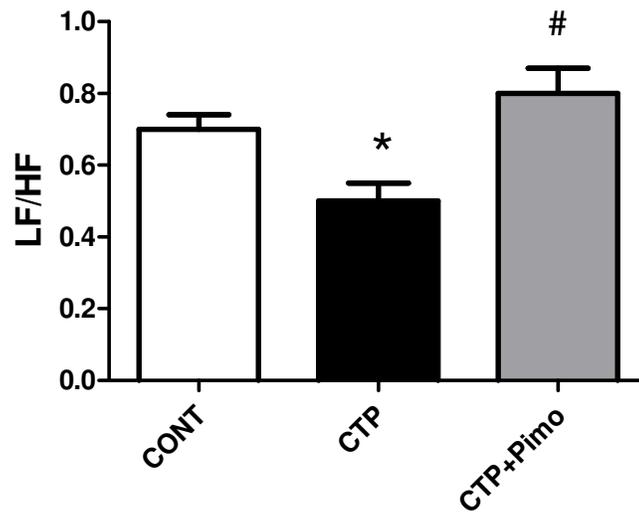


Figura 32. Valores médios das razões entre os componentes LF e HF dos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo obtidos no exame Holter. * $P < 0,05$ vs CONT e # $P < 0,05$ vs CTP.

5 DISCUSSÃO

- **Frequências cardíacas mínima, média e máximas:**

Em relação aos valores médios das frequências cardíacas mínima, média e máximas apresentados pelos cães dos diferentes grupos, os animais do grupo CTP e CTP + Pimo não mostraram valores significativamente superiores de frequências mínimas, médias e máximas quando os comparamos entre si e aos cães sadios (CONT). Além disso, o número de complexos QRS apresentados por esses animais também não apresentaram significância. Isso nos sugere que pelos menos durante o período de estudo, os animais independentemente de possuírem ou não cardiopatias e/ou serem tratados com terapia convencional ou associada ao Pimobendan, apresentaram valores de frequências cardíacas muito próximas entre si. Portanto, nossos achados contradizem os achados de Ampuero (2013), que em seu estudo utilizando cães com degeneração mixomatosa da válvula mitral, comprovou que a frequência cardíaca média e o número de complexos QRS apresentados por esses cães em relação aos animais não portadores de insuficiência cardíaca, foram significativamente superiores. Os achados desse autor comprovam a teoria de que um aumento significativo da frequência cardíaca média e do número de complexos QRS apresentados pelos animais é realmente indicativo de uma maior modulação do sistema nervoso autônomo simpático. Como nesse estudo não foram coletados valores de frequência cardíaca antes de qualquer tipo de tratamento nos grupos II e III (cardiopatas), isso então não nos possibilita afirmar que esses valores não foram estatisticamente diferentes devido às terapias farmacológicas preconizadas, isto é, se os tratamentos utilizados normalizaram a frequência cardíaca ou se a frequência cardíaca não muda mesmo independente do tipo de terapia empregada. Em conjunto, os dados de Ampuero (2013) e os nossos, sugerem que cães com valvulopatias apresentam aumento da FC e o “tratamento padrão”, independentemente do Pimobendan, normaliza esse parâmetro.

- **VFC no domínio do tempo:**

Em relação aos parâmetros de estudo da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo, os animais do grupo CTP não apresentaram em média valores de intervalos RR estatisticamente diferentes quando comparado ao valor apresentado pelos cães sadios (grupo CONT) e pelos cães tratados com o fármaco Pimobendan (grupo CTP + Pimo) ($P > 0,05$). Os valores médios da média de todos os intervalos RR normais do traçado (NN médio) quando comparados entre os cães dos grupos cardiopatas e aos cães sadios, também não apresentaram significância. Apesar dos grupos de animais com cardiopatia não mostrarem valores de frequências cardíacas diferentes dos cães sadios, esses dados também não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$). Portanto, esses achados são diferentes dos dados publicados por Oliveira et al. (2014). Os autores trabalhando com cães portadores de insuficiência cardíaca por doença valvar, mostraram que estes cães apresentaram valores significantes de frequências cardíacas aumentadas e maior permanência em taquicardia durante todo o tempo de avaliação quando comparados a cães sadios. Tal fato se diferencia dos achados de nosso estudo, principalmente porque estes autores possuíam cães portadores de insuficiência cardíaca não submetidos a qualquer influência farmacológica e nós não.

Os animais dos grupos CTP e CTP + Pimo apresentaram redução significativa ($P < 0,05$) dos seguintes parâmetros do domínio do tempo estudados (SDNN; SDANN; SDNNIDX; RMSSD e pNN50) quando comparados aos animais sadios do grupo CONT. Esses dados estão de acordo com Ampuero (2013), Júnior et al. (1990) e Oliveira (2009). Os dois primeiros autores afirmam que a redução dos parâmetros da VFC no domínio do tempo

em cães com insuficiência cardíaca é atribuída principalmente pela menor participação do sistema nervoso autônomo parassimpático e maior participação do sistema nervoso autônomo simpático na modulação da atividade do coração. Oliveira (2009) atribui redução dos valores no domínio do tempo devido ao aumento significativo da frequência cardíaca secundária a ICC, o que não foi observado em nossos dados. Isto portanto pode sugerir que o tratamento padrão, com ou sem pimobendan não é efetivo em normalizar este parâmetro em cães portadores de insuficiência cardíaca por DVDCM.

A grande maioria dos animais cardiopatas que utilizamos foi classificada na Classe III de insuficiência cardíaca de acordo com a classificação de NYHA. Oliveira (2009) trabalhando com cães portadores de insuficiência cardíaca Classe III (NYHA) demonstrou que esses animais apresentaram valores de frequências cardíacas significativamente elevadas e, em cães saudáveis, frequências cardíacas reduzidas, atribuindo isso também a uma predominância do sistema nervoso simpático sobre a modulação do coração dos pacientes cardiopatas.

Os dados do SDNN (desvio padrão de todos os intervalos RR normais do traçado) mostraram reduções significativas dos cães dos grupos cardiopatas em relação aos cães saudáveis ($P < 0,05$). Da mesma forma que o NN médio, esse parâmetro de acordo com Ampuero (2013), é capaz de sofrer interferências em curto prazo. O tratamento com Pimobendan não foi capaz, portanto, de alterar significativamente esses valores quando comparamos com os cães submetidos à terapia convencional (grupo CTP).

Em relação ao SDANN (desvio padrão das médias dos intervalos RR medidos em intervalos de 5 minutos), Pascon (2009) cita que essa medida é menos sujeita aos erros de edição e que ela é calculada a partir de valores médios de muitos intervalos RR, os quais diluem possíveis interferências de ritmos anormais despercebidos. A base de cálculo empregada neste índice permite detectar flutuações da frequência cardíaca em longo prazo, excluindo, por exemplo, a influência exercida pela estimulação vagal durante a respiração ou eventos estressantes menores que cinco minutos, o que facilita ainda mais a interpretação da modulação autonômica sobre o órgão. Como os resultados dos cães do grupo CTP e CTP + Pimo se mostraram significativamente inferiores em relação aos animais saudáveis ($P < 0,05$), podemos sugerir que os corações dos cães pertencentes aos cardiopatas apresentaram uma maior modulação do sistema nervoso autônomo simpático, portanto com uma menor VFC. Quando comparamos os dados somente entre os cardiopatas (CTP vs CTP + Pimo), observamos uma queda dos valores do grupo CTP + Pimo, porém sem comprovação estatística. Portanto, o tratamento com Pimobendan não foi capaz de influenciar significativamente na modulação parassimpática sobre o coração desses animais.

O SDNNi (média dos desvios padrões dos intervalos RR normais calculados em intervalos de cinco minutos), variável situada entre as variáveis que sofrem interferências a curto (NNmédio e SDNN) e longo prazos (SDANN), é capaz de alterar-se por modificações da frequência cardíaca ocorridas dentro de períodos menores que cinco minutos (CALVERT, 1998). Os cães do grupo CTP e CTP + Pimo apresentaram seus valores significativamente reduzidos quando comparados aos cães saudáveis ($P < 0,05$). Esses achados nos sugerem mais uma vez a influência simpática constante sobre a modulação autonômica cardíaca dos pacientes portadores de insuficiência cardíaca. Já os cães cardiopatas tratados com Pimobendan (grupo CTP + Pimo), não mostraram alteração significativa de seus valores em relação aos animais cardiopatas tratados somente com a terapia convencional (grupo CTP).

Os valores médios dos índices rMSSD (raiz quadrada da soma das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado) e pNN50 (percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms do seu adjacente) dos animais cardiopatas dos grupos CTP e CTP + Pimo mostraram-se também significativamente inferiores ($P < 0,05$) em relação aos animais do grupo controle (CONT). Pascon (2009) cita que em situações

normais (ritmos sinusais), seus valores quantificam a modulação parassimpática veiculada ou não pela respiração. Assim, esses dados sugerem novamente que a modulação predominante no coração dos cães cardiopatas durante o período de estudo é a modulação simpática, já que apresentaram redução de ambos os valores dessas variáveis. Portanto, nossos resultados corroboram os achados desse autor. Quando comparamos somente os dados dos dois grupos de cães cardiopatas, estes não apresentaram significância estatística ($P > 0,05$), sugerindo que a terapia com Pimobendan não foi capaz de aumentar a influência parassimpática sobre os corações desses animais.

Assim, podemos sugerir baseados em nossos achados no domínio do tempo, que independente do tratamento instituído para os cães portadores de insuficiência cardíaca (terapia convencional e/ou associada ao fármaco Pimobendan), houve uma significativa redução da variabilidade total da frequência cardíaca quando comparamos aos cães saudáveis. Isto é, em conjunto, esses dados sugerem que os tratamentos farmacológicos empregados aqui, pelo menos na dose e no tempo utilizados, são ineficazes em normalizar as alterações na VFC no domínio do tempo.

- **VFC no domínio da frequência:**

Em relação aos valores médios da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência, podemos observar através dos dados obtidos em nosso estudo, valores diferentes em relação à potência total de espectro entre os grupos comparados. Os cães cardiopatas de ambos os grupos (CTP e CTP + Pimo) apresentaram esses valores significativamente inferiores ($P < 0,05$) quando comparados aos cães saudáveis (grupo CONT). Tais resultados também corroboram os achados de Oliveira et al. (2014), que também mostraram diminuição significativa da potência total dos cães cardiopatas portadores de doença valvular quando comparados a cães saudáveis. Essa diferença, a princípio, pode nos sugerir uma menor variabilidade da frequência cardíaca relacionada a uma menor potência espectral total. Assim, uma menor potência total na variabilidade temporal dos intervalos RR nos exames, representa uma menor modulação parassimpática sobre o coração (BILCHICK, 2006; VANDERLEI et al. 2009). Esses dados também nos sugerem, que, independente do tipo da terapia farmacológica que os cães cardiopatas foram submetidos, houve uma diminuição significativa do poder espectral total quando comparamos aos animais saudáveis. Em contrapartida, observou-se que o fármaco Pimobendan não foi capaz de atenuar esses resultados em relação aos cães cardiopatas que não receberam esse tipo de tratamento.

No entanto, deve-se ressaltar que nas diferentes faixas de frequências estudadas entre os grupos de animais, não houve alteração na potência HF (alta frequência - representada pela modulação do sistema nervoso autônomo parassimpático), durante o período de avaliação nos animais estudados ($P > 0,05$). Malik (1995) descreve que redução significativa desses valores é capaz de nos sugerir redução na modulação parassimpática sobre o coração que é predominante em situações normais. Embora seja difícil atribuir isso ao tratamento, já que em nosso estudo não havia animais cardiopatas sem tratamento, é possível que o tratamento padrão (com ou sem Pimobendan) tenha sido eficaz em normalizar a possível redução na frequência HF. Estudos futuros em cães espontaneamente cardiopatas (ou induzidos experimentalmente) sem tratamento serão necessários para comprovar essa hipótese.

A potência espectral LF (baixa frequência – representada pela modulação tanto pelo simpático e parassimpático) mostrou-se com valores significativamente inferiores nos cães cardiopatas do grupo CTP quando comparados aos cães saudáveis ($P < 0,05$). Com a apresentação desses valores, mais uma vez observamos uma redução da variabilidade da modulação autonômica sobre o coração, quando os comparamos. Nossos achados nesse estudo, portanto, são similares aos descritos por Zhou et al. (2009), que também relataram

valores semelhantes de frequência LF em cães com insuficiência cardíaca induzida e submetidos à análise de Holter por trinta minutos seguidos. No grupo de cães submetidos à terapia adicional com Pimobendan, observamos valores significativamente superiores ($P < 0,05$) quando comparamos ao grupo CTP, e similares aos controles, sugerindo, portanto, a influência deste fármaco em alterar/normalizar a modulação autonômica simpática e mostrar valores próximos aos dos cães sem cardiopatia. Em conjunto, devemos concluir que o Pimobendam aumentou a modulação simpática para o coração. Relacionando este achado aqueles das classificações funcionais, onde se observou que neste grupo havia maior número de animais nas classes III e IV comparados a Grupo II, podemos sugerir que o pimobendam (pelo menos na dose e tempo utilizados aqui) evita o possível efeito benéfico de reduzir a razão LF/HF induzido pela terapia convencional. Provavelmente, a manutenção de LF em baixos níveis deve ser importante para manter a homeostase/alostase cardiovascular em cães cardiopatas, e a alteração/normalização deste status deve fazer parte de uma cadeia de eventos que levam ultimamente a descompensação cardíaca e aumento da classe funcional do paciente.

Sobre a potência VLF, os animais do grupo CTP e CTP + Pimo apresentaram valores significativamente inferiores aos animais do grupo CONT ($P < 0,05$). Tais valores, portanto representam uma menor modulação simpática sobre o coração, pelo menos nesse período de estudo. Apesar de esses animais apresentarem cardiopatia crônica, nossos achados não são diferentes aos de Zhou et al. (2009), que também demonstraram quedas significativas nos valores do domínio da frequência, inclusive VLF, em animais com insuficiência cardíaca. Esses autores atribuem essa diminuição dos valores da variabilidade da frequência cardíaca principalmente porque nessa condição, essa diminuição está estritamente correlacionada a parâmetros de repolarização e com o limiar de fibrilação do coração. Além disso, é importante lembrar que este parâmetro sofre grande influência de oscilações hormonais principalmente do sistema renina angiotensina aldosterona e, como os cães cardiopatas de ambos os grupos recebiam de forma crônica um fármaco inibidor da enzima conversora de angiotensina (iECA – maleato de benazepril®), tal fato pode ter corroborado para esses resultados. Outro fato que observamos ao verificar esse parâmetro é que a terapia com o fármaco Pimobendan, portanto, não foi capaz de reverter os valores da modulação simpática quando comparamos aos cães que receberam somente a terapia convencional, pelo menos durante o tempo de terapia realizada.

De acordo com os valores da relação LF/HF, representando teoricamente uma “medida de equilíbrio simpátovagal”, os animais cardiopatas do grupo CTP apresentaram valores significativamente inferiores ($P < 0,05$) quando comparados aos animais sadios (grupo CONT). Essa diminuição de valor na relação entre as duas frequências nos sugeriu menor participação simpática sobre os corações dos animais submetidos à terapia convencional. Zhou et al. (2009) trabalhando com cães com insuficiência cardíaca congestiva induzida mostrou que não houve diferenças nesta relação em seus resultados quando comparado aos cães sadios. Quando comparamos os dados entre os cardiopatas (CTP vs CTP + Pimo), os valores nos mostram que a terapia com Pimobendan foi capaz de promover a esses cães uma maior modulação autonômica simpática ($P < 0,05$), fazendo com que os cães que receberam esta droga, apresentassem valores desta relação muito próximos aos cães sadios pertencentes ao grupo CONT.

6 CONCLUSÕES

- Podemos encontrar na literatura científica diversos estudos envolvendo a Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) com suas passíveis alterações desencadeadas em cães que são portadores de insuficiência cardíaca. Mas, torna-se extremamente relevante nossos achados, pois mostraram que estas alterações são capazes de se manter, mesmo trabalhando com animais apresentando uma grande diversidade racial, de pesos, sexo e idades.
- Os cães cardiopatas utilizados para esse estudo apresentaram-se em diferentes classes de insuficiência cardíaca (II, III e IV), com predomínio da Classe III e de doença valvular (estágios C e D), predominando para esta última classificação, o estágio C.
- As Clínicas Veterinárias localizadas em diferentes regiões do estado do Rio de Janeiro utilizadas para a realização desse estudo forneceram cães cardiopatas que apresentavam sopro de regurgitação valvular em diferentes intensidades de classificação (III a VI), predominando, portanto, de uma maneira geral, pacientes com intensidade III e IV.
- As alterações da VFC se mostraram claras e visíveis durante o tempo de realização do estudo nos cães portadores de cardiopatias, que mostraram então valores significativamente inferiores nos domínios do tempo e da frequência quando comparados aos cães saudáveis.
- Pimobendan trata-se de um novo fármaco com efeitos de inotropismo positivo e vasodilatação que de acordo com relatos recentes da literatura, promove melhoras significativas no estado clínico e de alguns parâmetros fisiológicos de cães cardiopatas, porém, ainda sem qualquer descrição de sua possível capacidade de influenciar na modulação autonômica do coração e conseqüentemente nos valores da VFC desses pacientes. Em nosso estudo em parâmetros como a medida de equilíbrio “simpato vagal” (relação LF/HF), a terapia com este fármaco foi significativamente capaz de mostrar que os animais tratados apresentaram uma maior modulação autonômica simpática, apesar de estarem em estágios diferentes.
- O estudo da VFC torna-se completamente executável na prática da Clínica Médica de Pequenos Animais e mediante estas constatações, este exame poderá ser utilizado com uma larga escala de confiança, independente também de que estágio de insuficiência cardíaca o animal se encontra no momento de realização do exame, além do tipo de doença cardíaca instalada em cada paciente propriamente dito.
- A técnica de estudo da VFC através do exame Holter se mostra altamente capaz de orientar e auxiliar o clínico mediante a eficácia farmacológica de substâncias utilizadas na terapia da IC em pequenos animais, como realizado em nosso estudo, com o uso do Pimobendam.
- Outra possibilidade deste tipo de estudo utilizando a VFC é de avaliar o prognóstico e evolução desses animais através de seus valores principalmente em longos períodos, haja vista que suas reduções estão diretamente relacionadas a uma menor modulação

parassimpática e conseqüentemente aumentando a possibilidade de maior morbidade e morte súbita desses pacientes.

7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AMORIM, D.S.; DARGIE, H.J.; HEER, K.; BROWN, M.; JENNER, D.; OLSEN, E.G.J.; RICHARDSON, P.; GOODWIN, J.F. Is there autonomic impairment in congestive (dilated) cardiomyopathy? *The Lancet*. V. 1: 525-527, 1981.

AMPUERO, R.A.N. Variabilidade da frequência cardíaca em cães com degeneração mixomatosa crônica da válvula mitral. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. Jaboticabal, SP, 2013.

ARONOW, W. S. Epidemiology, Pathophysiology, Prognosis, and Treatment of Systolic and Diastolic Heart Failure. *Cardiology in Review*. V. 14, 2006.

ASANOI, H.; KAMEYAMA, T.; ISHISAKA, S. Ventriculo-arterial load matching of failing hearts. In: *Cardiac Energetics: From Emax to Pressure-Volume Area*, edited by M.M. LeWinter, H.Suga, and M.W. Watkins. Boston, MA: Kluwer, 1995, p. 157-169.

AKSEROLD, S.; GORDON, D.; UBEL, F.A.; SHANNON, D.C.; BARGER, A.C.; COHEN, R.J. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat to beat cardiovascular control. *Science*. V. 213, p. 220-222, 1981.

AKSELROD, S.; GORDON, D.; MADWED, J.B. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. *American Journal of Physiology*. V. 249, p. 867-875, 1985.

ÁLVAREZ, I.; FLÓREZ, Y. Pathophysiological effects of rennin-angiotensin-aldosterone system on congestive heart failure in dogs. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. V. 25, p. 511-522, 2012.

ATKINS, C.; BONAGUARA, S.; ETTINGER, P.; FOX, P.; GORDON, J.; HAGGSTROM, R.; HAMLIN, R.; KEENE (Chair), B.; LUIS-FUENTES, V.; STEPIEN, R. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Canine Chronic Valvular Heart Disease. V. 23, p. 1142-1150, 2009.

AUBERT, A.E.; RAMAEKERS, D.; BECKERS, F.; BREEM, R.; DENEFF, C.; VAN de WERF, F.; ECTOR, H. The analysis of heart rate variability in unrestrained rats. Validation of method and results. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. V. 60: 197-213, 1999.

BAKRIS, G.; MENSAH, G.; SINGH, M. Pathogenesis and Clinical Physiology of Hypertension. *Cardiology Clinics*. V. 28, p. 545-559, 2010.

BERNTSON, G. G. et al. Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology*. V. 34, n. 6, p. 623-648, 1997.

BIGGER, J.T.; FLEISS, J.L.; STEIMMAN, R.C.; ROLNITZKY, L.M.; KLEIGER, R.E.; ROTTMAN, J.N. Frequency domain measure of heart period variability and mortality after myocardial infarction. *Circulation*. V. 85, p. 164-171, 1992.

BILCHICK, K.; BERGER, R. Heart Rate Variability. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. Vol. 17, p. 691-694, 2006.

BILLMAN, G.E.; KUKIELKA, M. Effects of endurance exercise training on heart rate variability and susceptibility to sudden cardiac death: protection is not due to enhanced cardiac vagal regulation. *Journal of Applied Physiology*. V. 100, n. 3, p. 896-906, 2006.

BOO, J.F.G.; MARTÍNEZ, V.A.Q.; GARCIA, J.O.M.R. Definición, fisiopatología y clasificación. *Archivos de Cardiología de Mexico*. Vol. 77, 2007.

BORGARELLI, M; ZINI, E.; D'ANGOLO, G. Comparasion of primary mitral valve disease in German Shepherd dogs and in small breeds. *Journal of Veterinary Cardiology*. Vol. 6, p.27-34, 2004.

BOYLE, K,L.; LEECH, E. A review of the pharmacology and clinical uses of pimobendan. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. V. 22 (4), p. 398-348, 2012.

BRUNKHROST, D.; V der LEYEN, H.; MEYER, W.; NIQBUR, R.; SCHIMIDT-SCHUMACKER, C.; SCHOLZ, H. Relation of positive inotropic and chronotropic effects of pimobendan, UD-CG 212 Cl, milrinone and other phosphodiesterase inhibitors to phosphodiesterase II inhibition in guinea-pig heart. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*. V. 339 (5), p. 575-583, 1989.

BUCH, A.N.; COOTE, J.H.; TOWNEND, J.N. Mortality, cardiac vagal control and physical training- what`s the link? *Experimental physiology*. V. 87, n. 4, p. 423-435, 2002.
BUCHANAN, J.W. Chronic valvular disease (endocardiosis) in dogs. *Comparative Medicine and Veterinary Journals*. Vol. 6, p. 6-7, 2004.

BURCHELL, R.K.; SCHOEMAN, J. Advances in the understanding of the pathogenesis, progression and diagnosis of myxomatous mitral valve disease in dogs. *Journal of the South African Veterinary Association*. V. 85 (1), p. 1-5, 2014.

CALVERT, C.A. Heart Rate Variability. *Advances in Cardiovascular Diagnostics and Therapy*. V. 28, p. 1409-1427, 1998.

CAMACHO, A.A. Universidade UNESP Jaboticabal – SP. Apostila (95p), 2004.

CAMACHO, A.A; PEREIRA, P. M. Fisiopatologia da insuficiência cardíaca congestiva em pequenos animais. *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP*. São Paulo, volume 2, fascículo I, p. 34 - 38, 1999.

CAMBÃO, M.S.; MOREIRA, A.F.L. Fisiopatologia da Insuficiência Cardíaca Crônica. *Revista Portuguesa de Cardiologia*. V. 28, 2009.

CAMBRI, L.T.; FRONCHETTI, L.; DE OLIVEIRA, F.R.; GEVAERD, M.S. Variabilidade da frequência cardíaca e controle metabólico. *Arquivos Sanny de Pesquisa em Saude*. V. 1 (1), p. 72-82, 2008.

CARARETO, R.; SOUSA, M.G.; ZACHEU, J.C.; AGUIAR, A.J.A.; CAMACHO, A.A. Variabilidade da frequência cardíaca em cães anestesiados com infusão contínua de propofol e sufentanil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. V. 59, n.2, p. 329-332, 2007.

CHAMAS, P.P.C.; SALDANHA, I.R.R.; COSTA, R.L.O. Prevalência da doença degenerativa valvar crônica mitral em cães. *Journal of Health Science Institute*. Vol. 29 (3), p. 214-217, 2011.

COHN, J.N.; LEVINE, T.B.; OLIVARI, M.T.; GARBERG, V.; LURA, D.; FRANCIS, G.S.; SIMON, A.B.; RECTOR, T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *The New England Journal of Medicine*. V. 311: 819-823, 1984.

CORREA, L.M.A; SANTOS, T.S.N.P.; MOURA, T.H.P.; NEGRAO, C.E. Alterações Autonômicas na Insuficiência Cardíaca: benefícios do exercício físico. *Revista SOCERJ*, 21 (2): 106-111, 2008.

CARO, A.; YNARAJA, E.; MONTOYA, J.A. Effects of Short-term Treatment with Pimobendan in Dogs with Myxomatous Valve Disease. *Journal of Applied Animal Research*. V. 35, 2009.

CAVALCANT, G.A.O; NOGUEIRA, R.B.; SAMPAIO, G.R.; ARAUJO, R.B.; GONCALVES, R.S. Avaliação por eletrocardiografia contínua (holter) em cães da raça Pastor Alemão praticantes de atividade física regular. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. V.61, n6, p.1446-1449, 2009.

ENDO, M.; HORI, M. Acute heart failure: inotropic agents and their clinical uses. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. V. 7 (16), 2179-2202, 2006.

ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. Tratado de Medicina Interna Veterinária: Doenças do Cão e do Gato. 5^o Ed. Editora Guanabara. São Paulo, 2004.

FELDMAN, J.; GOLDWASSER, G.P. Eletrocardiograma: recomendações para sua interpretação. *Revista da SOCERJ*. V.17, n.4, 2004.

FRANCIS, J.; WEISS, R.M.; WEI, S.G.; JOHNSON, A.K.; FELDER, R.B. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. *American Journal of Physiology. Regulatory Integrative Com. Physiol.* 281: 1734-1745, 2001.

GOLDBERGER, J.J. Sympathovagal balance: how should we measure it? *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. V. 276, p. 1273-1280, 1999.

GRUPI, C.J.; BRITO, F.S.; UCHIDA, A.H. Eletrocardiograma de Longa Duração: o Sistema Holter – Parte I. *Reblampa*, v.12, p.86-92, 1999.

GRUPI, C.J.; BRITO, F.S.; UCHIDA, A.H. Eletrocardiograma de Longa Duração: o Sistema Holter – Parte III. *Reblampa*, v.13, p.71-76, 2000.

HAMBLETON, R.; KRALL, J.; TIKISHVILI, E.; HONNEGAR, M. AHMAD, F.; MANGANIELLO, V.C.; MOVSESIAN, M.A. The Journal of Biological Chemistry. V. 280 (47), p. 39168-39174, 2005. Isoforms of cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE3 and their contribution to cAMP hydrolytic activity in subcellular fractions of human myocardium.

HAUTALA, A. Effect of physical exercise on autonomic regulation of heart rate. Academic Dissertation. Finland: Faculty of Medicine, University of Oulu, 2004.

HUIKURI, H. V.; MAKIKALLIO, T.; AIRAKSINEN, K.E.; CASTELLANOS, A.; MYERBURG, R.J. Measurement of heart rate variability: a clinical tool or a research toy?. Journal of the American College of Cardiology. V. 34, n. 7, p. 1878-1883, 1999.

JR., S.S.H.; EVANS, A.R.; VANOLI, E.; ADAMSON, P.B.; STRAMBA-BADIALE, M.; ALBERT, D.E.; FOREMAN, R.D.; SCHWARTZ, P.J. Heart Rate Variability Before and After Myocardial Infarction in Conscious Dogs and High and Low Risk of Sudden Death. Journal of American College of Cardiology. Vol. 16, n. 4, 1990.

KANNO, N.; KUSE, H.; KAWASAKI, M.; HARA, A.; KANO, R.; SASAKI, Y. Effects of Pimobendan for Mitral Valve Regurgitation in Dogs. Journal of Veterinary Medical Science. V.69 (4): 373-377, 2007.

KITTLESON, M.D.; KIENLE, R.D. Small animal cardiovascular medicine. St. Louis: Mosby; 1998.

KITZEN, J.W.M. Pimobendan. Cardiovascular Drug Reviews. V. 6 (4), p. 265-291, 1989.

KLEIGER, R.E.; STEIN, P.K.; BIGGER, J.T.Jr.. Heart rate variability: measurement and clinical utility. Annals of Noninvasive Electrocardiology. V. 10, n.1, p. 88-101, 2005.

KLEIGER, R.E.; MILLER, J.P.; BIGGER, J.T.; MOSS, A.J. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after myocardial infarction. American Journal of Cardiology. V. 59, p. 256-262, 1987.

LADENSON, J.H. A personal history of marker of myocyte injury (myocardial infarction). Clinical Chimica Acta. V. 381, n.1, p.3-8, 2007.

LEOMIL NETO, M.; LARSSON, M.H.M.A.; PEREIRA, L.; Brito, F.S. Padronização da monitorização eletrocardiográfica por 24 horas em cães. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. V. 54, n.2, p. 133-138, 2002.

LIMA, J.R.P.; KISS, M.A.P.D.A. Limiar de variabilidade da frequência cardíaca. Revista Brasileira Atividade Física e Saúde. Vol. 4 (1), p. 29-38, 1999.

LOMBARDI, F.; SANDRONE, G.; PEMPRUNER, S. Heart rate variability as an index of sympatho-vagal interaction in patients after myocardial infarction. American Journal of Cardiology. V. 60, p. 1239-1245, 1987.

LOMBARDI, F.; Heart rate variability and its sympatho-vagal modulation. Cardiovascular Research. V. 32, n. 2, p. 208-216, 1996.

- MALLIANI, A.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; CERUTTI, S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation*. V. 84, p. 489-492, 1991.
- MALIK, M. Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use. *Circulation*. Vol. 93, p. 1043-1065, 1996.
- MALIK, M.; CAMM, A.J. Heart Rate Variability. 1 ed. Armonk: Futura, 1995.
- MELO, C.J.B.; VELÁSQUEZ, C.A.C.; MARTÍNEZ, J.M.A.; SARASTY, A.M.; PINTO, P.V. Enfermedad valvular degenerativa canina: reporte de caso. *Revue de Médecine Vétérinaire*. V. 28, p. 91-102, 2014.
- MILLER, A. Aldosterone antagonism in heart failure. *Vascular Health and Risk Management* Vol. 3, p. 605-609, 2007.
- MONTANO, N.; COGLIATI, C.; SILVA, V.J.D. Sympathetic rhythms and cardiovascular oscillations. *Autonomic Neuroscience*. V. 90, p. 29-34, 2001.
- MONTERO, G.U.; CAMPOS, A.U. Actualización en los mecanismos fisiopatológicos de la insuficiencia cardiaca. *Acta Medica Costarricense*. Vol. 50 (1), 2008.
- MORAES, R.S.F.; FERLIN, E.L. Variabilidad de la frecuencia cardiaca. Utilidad Del analisis espectral para evaluar el sistema nervioso autônomo. *Revista de la Federacion Argentina de Cardiologia*. V. 60, p. 77-80, 1992.
- MORAIS, H.A. Pathophysiology of Heart Failure and Clinical Evaluation of Cardiac Function. In: Ettinger, S.J.; Feldman, E.C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 6 th ed. St. Louis, Missouri, USA. Saunders, 2005: 692-712.
- MUZZI, R.A.L.; MUZZI, L.A.L.; ARAÚJO, R.B.; LÁZARO, D.A. Doença crônica da válvula mitral em cães: avaliação clínica funcional e mensuração ecocardiográfica da válvula mitral. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. V. 61, n.2, p. 337-344, 2009.
- NAZARETH, L.A.M. Insuficiência cardíaca congestiva em cães. Trabalho de Especialização *latu sensu* em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais. Universidade Castelo Branco – UCB. Goiânia, 2006.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. 2006. *Medicina Interna de Pequenos Animais* 4ª ed. Elsevier Editora Ltda, São Paulo, 2010.
- NOGUEIRA, R. B.; MUZZI, R. A. L.; HERRERA, D. S.; FALCO, L. R.; CAVALCANTI, G. A. O. Avaliação do ritmo cardíaco em cães da raça Boxer saudáveis pela eletrocardiografia contínua (Holter). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. V. 58, n. 1, p. 133-136, 2006.
- NOSZCZYK-NOWAK, A. Heart rate turbulence in healthy dogs and dogs with dilated cardiomyopathy. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. Vol. 15, n.3, 2012.

OLIVEIRA, M.S. Eletrocardiografia contínua (Holter) na avaliação de cães com degeneração mixomatosa crônica da válvula mitral. Dissertação de Mestrado. UFMG, Belo Horizonte, 2009.

OLIVEIRA, M.S.; MUZZI, R.A.L.; ARAUJO, R.B.; NOGUEIRA, R.B.; MUZZI, L.A.P.; GIANNICO, A.T. Holter em animais de companhia – indicações clínicas e avaliação da variabilidade da frequência cardíaca. *Clínica Veterinária*, n.92, p. 78-86, 2011.

OLIVEIRA, M.S.; MUZZI, R.A.L.; ARAÚJO, R.B. et al. Heart rate variability parameters of myxomatous mitral valve disease in dogs with and without heart failure obtained using 24-hour Holter electrocardiography. *Veterinary Record*. V.170, p.622-625, 2012.

OLIVEIRA, M.S.; MUZZI, R.A.L.; ARAUJO, R.B.; FERREIRA, D.F.; SILVA, E.F. Heart rate variability and arrhythmias evaluated with Holter in dogs with degenerative mitral valve disease. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. Vol. 66, n.2, p. 425-432, 2014.

OYAMA, M.A; FOX, P.R.; RUSH, J.E.; ROZANSKI, E.A.; LESSER, M. Clinical utility of serum N-terminal proB-type natriuretic peptide concentration for identifying cardiac disease in dogs and assessing disease severity. *Journal of American Veterinary Medical Association*. V. 232, n.10, p. 1496-1503, 2008.

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

PACKER, M. The neurohormonal hypothesis: A theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure. *Journal of American College of Cardiology*. V. 20, p. 248-254, 1992.

PARSONS, W.J.; RAMKUMAR, V.; STILES, G.L. The new cardiotoxic agent sulmazole is an A1 adenosine receptor antagonist and functionally blocks the inhibitory regulator, Gi. *Molecular Pharmacology*. V. 33 (4), p. 441-448, 1988.

PASCON, J.P.E. Estudo da Variabilidade da Frequência Cardíaca em Cães. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, 2009.

PETRIC, A. D. Myxomatous Mitral Valve Disease In Dogs – An Update And Perspectives. *Macedonian Veterinary Review*. V. 38 (1). P. 13-20, 2015.

PETRIE, J.P. Practical application of Holter monitoring in dogs and cats. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. V. 20, p. 173-181, 2005.

PICCIRILLO, G.; MAGRI, D.; OGAWA, M.; SONG, J.; HAN, S.; JOUNG, B.; CHOI, E.K.; HWANG, S.; CHEN, L.S.; LIN, S.F.; CHEN, P.S. Autonomic Nervous System Activity Measured Directly and QT Interval Variability in Normal and Pacing-Induced Tachycardia Heart Failure Dogs. *Journal of the American College of Cardiology*. Vol. 54, n. 9, 2009.

PICCIRILLO, G.S.; OGAWA, M.; SONG, J.; CHONG, VOON J.; JOUNG, B; HAN, S.; MAGRI, D; CHEN, L.; FONG. S.; CHEN, P.S. Power spectral analysis of heart rate

variability and autonomic nervous system activity measured directly in healthy dogs and dogs with tachycardia-induced heart failure. *Heart Rhythm*. V. 6 (4); 546-552, 2009.

International Small Animal Cardiac Health Council. Recommendations for the diagnosis and treatment of heart failure in small animals. Woodbridge, NJ: ISACHC Publication; 1994: p.5.

RAO, Y.J.; XI, L. Pivotal Effects of phosphodiesterase inhibitors on myocyte contractility and viability in normal and ischemic hearts. *Acta Pharmacological Science*. V. 30 (1); 1-24, 2009.

REIS, A.F.; BASTOS, B.G.; MESQUITA, E.T.; ROMEO, L.J.M.; NOBREGA, A.C.L. Disfunção Parassimpática, Variabilidade da Frequência Cardíaca e Estimulação Colinérgica após Infarto Agudo do Miocárdio. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. V. 70 (3), p. 193-199, 1998.

ROVERE, M.T.L.; PINNA, G.D.; HOHNLOSER, S.H.; MARCUS, F.I.; MORTARA, A.; NOHARA, R.; BIGGER, J.T.Jr.; CAMM, A.J.; SCHWARTZ, P.J. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. *Circulation*, V. 103, n. 16, p. 2072-2077, 2001.

SATO, N.; ASAI, K.; OKUMURA, S.; TAKAGI, G.; SHANNON, R.P.; FUJITA-YAMAGUCHI, Y.; ISHIKAWA, Y.; VATNER, S.F.; VATNER, D.E. Mechanisms of desensitization to a PDE inhibitor (milrinone) in conscious dogs with heart failure. *American Journal of Physiology*. V. 276, p. 1699-1705, 1999.

SAUL, J.P. Beat-to-beat variations of heart rate reflect modulation of cardiac autonomic outflow. *NIPS (News In Physiological Science)*. V. 5, p. 32-37, 1990.

SCHEER, P.; SVOBODA, P.; SEPSI, M.; JANECKOVA, DOUBEK, J. The Electrocardiographic Holter Monitoring in Experimental Veterinary Practice. *Physiological Research*. V. 59. p. 59-64, 2010.

SCHELD, H.H.; FRITSCH, R.; SCHLEPPER, M.; VAN MEEL, J.C. Pimobendan increases calcium sensitivity of skinned human papillary muscle fibers. *Journal of Clinical Pharmacology*. V. 29 (4), p. 360-366, 1989.

SHAW, S.P.; ROSANSKI, E.A.; RUSH, J.E. Cardiac Troponin I and T in Dogs with Pericardial Effusion. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. V. 18, p. 322-324, 2004.

SMITH, P.J.; FRENCH, A.T.; ISRAEL, N.V.; SMITH, S.J.; SWIFT, S.; LEE, A.J.; CORCORAN, B.M.; DUKED, J.M. Efficacy and safety of pimobendan in canine heart failure caused by mixomatous valve disease. *Journal of Small Animal Practice*. V. 46, p. 121-130, 2005.

SOLTER, P.F. Clinical Biomarkers of cardiac injury and disease. In: ACVP/ASVCP CONCURRENT ANNUAL MEETINGS. Savannah, USA, 2007.

SPINETTI, D.F.D.; DONIS H, J.H.; GONZÁLEZ, M.; SÁNCHEZ, F. Fisiopatología, Diagnóstico y Tratamiento Médico de La Insuficiencia Cardíaca Congestiva. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*. Vol. 8, 2010.

STEIN, P.K.; BOSNER, M.S.; KLEIGER, R.E.; Heart rate variability: A measure of cardiac autonomic tone. *American Heart Journal*. V. 127, p. 1376-1381, 1994.

STEIN, P.K.; KLEIGER, R.E. Insights from the study of heart rate variability. *Annual Review of Medicine*. V. 50, p. 249-261, 1999.

SUN, Y. Intracardiac renin-angiotensin system and myocardial repair/remodeling. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. V. 48, p. 483-489, 2010.

SUZUKI, S.R et al. The Effect of Pimobendan on Left Atrial Pressure in Dogs with Mitral Valve Regurgitation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. Vol. 25, p. 1328-1333, 2011.

Task force of the European society of cardiology and the North American society of pacing and electrophysiology: heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation*. V. 93, p. 1043-1065, 1996.

TILLEY, L.P.; SMITH JR. FRANCIS, W.K; OYAMA, M.; SLEEPER, M.M. *Manual of Canine and Feline Cardiology*. Elsevier, 4th edition, 2007.

UNGERER, M.; BOHM, M.; SCHWINGER, R.H. Antagonism of novel inotropic agents of A1 adenosine receptors and m-cholinoceptors in human myocardium. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*. V. 341 (6), p. 577-585, 1990.

VANDERLEI, L.C.; PASTRE, C.M.; HOSHI, R.A.; CARVALHO, T.D.; GODOY, M.F. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*. V.24, p.205-217, 2009.

VOLPE, M.; SAVOIA, C.; PAOLIS, P.D. The Renin-Angiotensin-System as a Risk Factor and Therapeutic Target for Cardiovascular and Renal Disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. V. 13, 2002.

YONESAWA, L.A.; DA SILVEIRA, V.F.; MACHADO, L.P.; KOHAYAGAWA, A. Marcadores cardíacos na Medicina Veterinária. *Ciência Rural*, Santa Maria, Online. 2009.

ZHOU, S.X.; LEI, J.; FANG, C.; ZHANG, Y.L; WANG, J.F. Ventricular electrophysiology in congestive heart failure and its correlation with heart rate variability and baroreflex sensitivity: a canine model study. *Europace*. V. 11, 245-251, 2009.

ANEXOS:

Grupos	Fc (mínima)	Fc (média)	Fc (máxima)	N° QRS
CONT	85,27 ± 7,06	120,5 ± 8,45	172,9 ± 11,35	3.217± 230,4
CTP	100,8 ± 8,22	134,6 ± 10,79	172,7 ± 10,80	3.630 ± 274,6
CTP + Pimo	103,0 ± 7,86	145,0 ± 16,05	177,5 ± 19,58	3.771 ± 403,7

A – Valores médios das frequências cardíacas e números de complexos QRS apresentados pelos animais dos grupos CONT (Controle), CTP (Cardiopata submetido à terapia padrão) e CTP + Pimo (Cardiopata submetido à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan) obtidos através do exame Holter.

Grupos	NN'S	NN médio (ms)	SDNN (ms)	SDANN (ms)	SDNNIDX (ms)	RMSSD (ms)	pNN50
CONT	2.714 ± 306,4	554,9 ± 39,01	109,6 ± 18,38	33,53 ± 6,75	101,1 ± 17,69	112,9 ± 22,61	42,85 ± 7,36
CTP	2.892 ± 304,2	455,5 ± 30,02	68,87 ± 9,82*	21,64 ± 4,66*	67,36 ± 9,86*	72,53 ± 13,72*	29,78 ± 6,68*
CTP + Pimo	2.794 ± 381,80	455,6 ± 52,92	55,57 ± 14,93*	7,42 ± 1,71*	51,57 ± 16,20*	62,14 ± 25,85*	22,37 ± 10,62*

B – Valores médios da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo apresentados pelos animais dos grupos Controle (CONT); Cardiopatas submetidos à terapia padrão (CTP) e Cardiopatas submetidos à terapia padrão associada ao fármaco Pimobendan (CTP + Pimo) (* P < 0,05 vs CONT).

Grupos	FC (bpm)	Potência total (ms2)	Potência VLF (ms2)	Potência LF (ms2)	Potência LF (nu)	Potência HF (ms2)	Potência HF (nu)	LF/HF
CONT	129,9 ± 8,90	3.615 ± 640,8	1.474 ± 316,9	914,6 ± 139,8	39,95 ± 7,00	1.242 ± 345,2	62,41 ± 7,12	0,7 ± 0,04
CTP	144,9 ± 10,86	1.698 ± 412,19*	416,7 ± 153,5*	439,2 ± 120,2*	46,23 ± 5,30	842,2 ± 244,7	53,77 ± 5,30	0,5 ± 0,05*
CTP + Pimo	143,7 ± 15,16	1.371 ± 374,1*	374,9 ± 92,94*	1.026 ± 164#	58,91 ± 8,20	1.234 ± 739,7	41,09 ± 8,20	0,8 ± 0,07#

C – Valores médios da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência apresentados pelos cães dos grupos CONT; CTP e CTP + Pimo (*P < 0,05 vs CONT; # P < 0,05 vs CTP).

D - Autorização de Consentimento Livre e Esclarecido dos Responsáveis pelos Animais.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DOS RESPONSÁVEIS PELOS ANIMAIS

AUTORIZAÇÃO

Eu, _____, Portador do Número de identidade _____ e CPF _____ declaro ser responsável pelo animal:

Nome do animal: _____ nº do animal: _____ e autorizo a sua participação na pesquisa “ESTUDO DO BALANÇO SIMPATOVAGAL E EFEITOS DO PIMOBENDAN NA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE CÃES PORTADORES DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA POR DVDCM SOB TRATAMENTO.”. Concordo com a avaliação clínica, coleta de dados sobre o animal, assim como a realização do exame de eletrocardiografia contínua (HOLTER) e coleta de sangue para realização da dosagem de biomarcadores cardíacos, estando ciente dos riscos e procedimentos necessários.

Declaro ainda, que fui esclarecido sobre o objetivo do presente estudo pelo médico veterinário responsável.

Endereço: _____ Telefone: _____

_____, ____ de _____ de _____.

Assinatura:

_____.