

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PATOLOGIA ANIMAL**

**DISSERTAÇÃO**

**ESTUDO MORFOLÓGICO E IMUNOHISTOQUÍMICO (TROPONINA  
C) NA DETECÇÃO DE LESÕES CARDÍACAS SECUNDÁRIAS À  
DOENÇA RENAL CRÔNICA EM CÃES**

**MARIANA SEQUEIRA D'AVILA**

2015



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

**ESTUDO MORFOLÓGICO E IMUNOHISTOQUÍMICO (TROPONINA  
C) NA DETECÇÃO DE LESÕES CARDÍACAS SECUNDÁRIAS À  
DOENÇA RENAL CRÔNICA EM CÃES**

**MARIANA SEQUEIRA D'AVILA**

*Sob a orientação da professora  
Vivian de Assunção Nogueira*

*e co-orientação da professora  
Ticiano do Nascimento França*

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária** no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Patologia Animal

Seropédica, RJ  
Março de 2015

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

**MARIANA SEQUEIRA D'AVILA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária** no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 13/03/2015

---

Vivian de Assunção Nogueira, MV, Dra. UFRRJ  
Orientadora

---

Tiago da Cunha Peixoto, MV, Dr. UFBA

---

Aparecida Alves do Nascimento, Biol., Dra. UFRRJ

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre ter me dado muita luz e sabedoria para seguir em frente e nunca ter me deixado desistir.

Aos animais, que nos ensinam cada vez mais sobre nós mesmos.

Aos meus pais, Luiz Carlos Nery d'Avila e Virginia Sequeira Moreira, pelos valores passados, pelos apoios moral e financeiro, além da constante motivação; sou eternamente grata por tudo que me tornei, sem vocês nada disso seria possível.

À minha irmã, Elisa Sequeira d'Avila, por ser minha fonte de inspiração; busco ser o melhor exemplo possível e procuro constantemente me tornar um ser humano melhor para que ela possa ter orgulho e se espelhar. Te amo.

À minha querida orientadora e professora Vivian de Assunção Nogueira, pela primeira oportunidade na patologia, pelo apoio constante e ensinamentos sempre muito valiosos.

Ao mestre Paulo Vargas Peixoto, exemplo de profissional. Obrigada pelo conhecimento que sempre nos passa com toda paciência e humildade. Espero alcançar apenas uma pequena parcela de toda sabedoria desse grande mestre.

Aos professores de patologia Carlos Hubinger Tokarnia, Ticiano do Nascimento França, Marilene de Farias Brito e Tiago da Cunha Peixoto, pelos ensinamentos durante toda caminhada, fundamentais para meu crescimento profissional e interesse pela área.

À minha avó, Ana Policarpo Sequeira (*in memoriam*), por ter me incentivado de todas as formas a buscar mais conhecimento. Graças a ela conheci um amor extra grande. Obrigada mãe, te amo.

Aos meus amigos do laboratório de Anatomia Patológica da UFRRJ, André Marandola dos Santos, Samay Zillmann, Ana Paula Pires, Gabriela Cid, Ileana Miranda, Daniel Ubiali, Rhudson Vilarinho, Letícia Pinto e Mariana Oliveira. Obrigada pela ajuda na realização deste trabalho e pela alegria de conviver e trabalhar com pessoas tão especiais.

À todos os meus amigos, em especial Thais Cruz de Paulo, Fernanda Cardoso Costa Rego, Natália Nagem, Caroline Belchior Cardoso e José Philippe Matieli Marinho pela preocupação constante, apoio e carinho durante toda essa jornada. Vocês são fundamentais para mim. Ao querido Matheus Rocha da Silva, que dividiu comigo muitos perrengues e alegrias; sou muita grata por tudo.

À Telma de Carvalho Silva, por fazer da nossa casa uma extensão do seu próprio lar. Obrigada por fazer parte da nossa família!

## RESUMO

D'AVILA, Mariana Sequeira. **Estudo morfológico e imunohistoquímico (Troponina C) na detecção de lesões cardíacas secundárias à doença renal crônica em cães.** 2015. 101p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Lesões cardíacas agudas ou crônicas podem resultar em perturbações na função renal e vice-versa, fenômeno conhecido como Síndrome Cardiorrenal. Este trabalho teve como objetivos verificar, com base na morfologia, as correlações entre Doença Renal Crônica (DRC) e lesões cardiovasculares, avaliar a real extensão dessas lesões em cães, visto que alterações miocárdicas regressivas incipientes podem não ser perceptíveis ou facilmente identificadas através da coloração rotineira pela hematoxilina e eosina, bem como verificar a eficácia do teste imunohistoquímico com o uso do anticorpo antitroponina C humano na detecção de lesões cardíacas em cães com insuficiência renal. Pela avaliação imunohistoquímica do coração dos 22 caninos, observaram-se diversos grupos de miócitos com redução significativa ou ausência de imunorreatividade para o anticorpo anti-troponina C, essas áreas, via de regra, correspondiam aos mesmos grupos de miócitos que, pela coloração de H.E. apresentavam alterações que variavam de leve tumefação celular a aumento da eosinofilia, perda de estriação, lise celular e cariólise, por vezes, acompanhadas de infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear. Adicionalmente, havia, no coração de 10 cães, lesão vascular, que variou de leve tumefação das células endoteliais a necrose, com deposição de material eosinofílico (marcação positiva para colágeno pela coloração Tricrômico de Masson), na parede vascular e mineralização. Macroscopicamente, observaram-se hipertrofia ventricular esquerda e lesões extra-renais da uremia, incluindo glossite e estomatite ulcerativas, pneumopatia e gastropatia urêmica, além de mineralização do espaço intercostal. Macroscopicamente os rins avaliados apresentaram atrofia, superfície irregular, fibrose e alteração na relação córtico-medular e na microscopia hialinização e esclerose glomerular, necrose marcada nas células tubulares, mineralização de algumas estruturas, inflamação (predominantemente mononuclear) e fibrose intersticial. Neste estudo, as lesões miocárdicas foram estreitamente correlacionadas às alterações vasculares, resultantes da uremia de longa duração e/ou da combinação de alterações metabólicas e celulares que ocorrem na Síndrome Cardiorrenal tipo 4, na qual o comprometimento crônico do rim pode induzir lesões crônicas no coração.

**Palavras chaves:** canino, troponina, síndrome cardiorrenal

## ABSTRACT

D'AVILA, Mariana Sequeira. **Morphological and immunohistochemical studies (Troponin C) to detect cardiac lesions secondary to chronic kidney disease in dogs**. 2015. 101p. Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine, Animal Pathology). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Acute or chronic abnormalities in cardiac function can lead to lesions in kidneys or heart and cause the Cardiorenal syndrome. This study had the objective to (1) to verify, based on morphology, the correlation between Chronic Kidney Disease (CKD) and cardiovascular injury, as well as to reveal the extent of the lesion in dogs; because initial regressive changes often cannot be discerned with hematoxylin and eosin staining (H&E) alone, and (2) to verify the reliability of immunohistochemistry with anti-cTnC human antibody, to detect heart lesions in dogs with renal failure. Cardiac fragments from 22 dogs were submitted to immunohistochemistry, which revealed reduction of cTnC levels in the cytoplasm of cardiomyocytes. This decrease in immunoreactivity occurred usually on the same myocytes with specific changes in H&E stain, ranging from mild cell swelling to increased eosinophilia, loss of striation, cell lysis and karyolysis that sometimes was accompanied by an inflammatory infiltrate. In 10 cardiac fragments vascular injury was observed, ranging from mild swelling to necrosis of endothelial cells, with deposition of eosinophilic material (staining positively for collagen in Masson's trichrome) in the vessel wall and mineralization. Grossly, there were left ventricular hypertrophy and extra-renal lesions of uremia, including glossitis and ulcerative stomatitis, uremic pneumo and gastropathy, and intercostal mineralization. The evaluated kidneys had lesions of different intensity, irregular surface, fibrosis and altered cortico-medullary relationship, hyalinization and glomerular sclerosis, marked tubular cell necrosis and mineralization, mononuclear infiltration, and interstitial fibrosis. In this study, the cardiac vascular lesions were correlated with changes resulting from long term uremia and/or combination of metabolic and cellular changes of the Cardiorenal syndrome type 4, wherein the chronic kidney impairment can induce chronic lesions in the heart.

**Key words:** canine, troponin, cardiorenal syndrome

## ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
<b>Figura 1</b>	Representação gráfica de um registro eletrocardiográfico padrão, mostrando a nomenclatura das ondas, intervalos e segmentos	18
<b>Figura 2</b>	Principais alterações do eletrocardiograma na hipercalemia	20
<b>Figura 3</b>	Desenho esquemático mostrando as três principais proteínas (actina, tropomiosina e troponina) dos filamentos finos e a estrutura desses filamentos – Acima, as três proteínas isoladas e, abaixo, depois de polimerizadas. As moléculas (monômeros) de actina são polarizadas e polimerizam em uma direção certa. Observe que cada molécula de tropomiosina ocupa o sulco que corresponde a sete moléculas de actina. Para cada molécula de tropomiosina, existe uma de troponina composta de três polipeptídeos globosos	30
<b>Figura 4</b>	Úlceras nas bordas da face ventral da língua (Canino 10)	58
<b>Figura 5</b>	Úlceras bem delimitadas, elípticas nas bordas da face ventral da língua (Canino 5)	58
<b>Figura 6</b>	Úlceras com centro avermelhado no lábio inferior (Canino 15)	58
<b>Figura 7</b>	Coração com moderado espessamento irregular, opaco, com aspecto verrucóide da válvula mitral e moderada hipertrofia do ventrículo esquerdo (Canino 9)	59
<b>Figura 8</b>	Edema e espessamento da mucosa estomacal (Canino 4)	59
<b>Figura 9</b>	Gastrite ulcerativa multifocal, edema e espessamento das pregas. Detalhe de duas úlceras bem delimitadas e circunscritas (Canino 4)	59
<b>Figura 10</b>	Estômago com úlcera de coloração vermelho-escura na mucosa e conteúdo sanguinolento (Canino 5)	60
<b>Figura 11</b>	Estrias esbranquiçadas na musculatura intercostal (mineralização) (Canino 16)	60
<b>Figura 12</b>	Rim com superfície irregular e retração do parênquima (Canino 4)	60
<b>Figura 13</b>	Área bem delimitada, deprimida e retraída da superfície renal (infarto crônico) (Canino 8)	61
<b>Figura 14</b>	Rim com áreas de retração do parênquima, dilatação da pelve, presença de cistos de retenção no córtex (detalhe) e alteração da relação cortico medular (Canino 9)	61

<b>Figura 15</b>	Rim com superfície irregular, retração do parênquima e presença de cistos de retenção (detalhe) (Canino 12)	61
<b>Figura 16</b>	Dilatação do espaço de Bowman com aumento do filtrado, atrofia compressiva de tufo glomerular e acentuada mineralização da cápsula de Bowman. Adicionalmente há necrose coagulativa de parte das células epiteliais tubulares (Canino 9) Obj. 10x. H.E.	62
<b>Figura 17</b>	Dilatação do espaço de Bowman com espessamento da cápsula, mineralização, degeneração e necrose coagulativa de células epiteliais tubulares, ectasia de túbulos e leve inflamação linfoplasmocitária periglomerular. Adicionalmente verifica-se hialinização com esclerose glomerular (Canino 11) Obj. 10x. H.E.	62
<b>Figura 18</b>	Acentuada “hialinização” da parede com obstrução da luz arteriolar (Canino 4) Obj. 10x. H.E.	63
<b>Figura 19</b>	Espessamento da parede arteriolar por depósito de substância eosinofílica amorfa e redução do lúmen vascular. (Canino 2) Obj. 10x. H.E.	63
<b>Figura 20</b>	Espessamento da parede arteriolar por depósito de substância eosinofílica amorfa e redução do lúmen vascular. (Canino 4) Obj. 10x. H.E.	64
<b>Figura 21</b>	Substância amorfa na parede e no interior do vaso corada em marrom-alaranjado, com filamentos de fibrina corados em azul (Canino 4) Obj. 10x. H.A.F.T.	64
<b>Figura 22</b>	Deposição de material eosinofílico na parede arteriolar, com presença de filamentos de fibrina e redução do lúmen vascular. (Canino 2) Obj. 10x. H.E.	65
<b>Figura 23</b>	Substância amorfa marrom-alaranjada na parede e no interior do vaso, com filamentos de fibrina corados em azul (Canino 2) Obj. 10x. H.A.F.T.	65
<b>Figura 24</b>	Depósito de substância amorfa e eosinofílica abaixo da íntima e da média (Canino 2) Obj. 10x. H.E.	65
<b>Figura 25</b>	Substância amorfa da Figura 24 corada de azul pelo Tricrômico de Masson (Canino 2) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.	65
<b>Figura 26</b>	Depósito de substância amorfa e eosinofílica na parede arteriolar, com filamentos de fibrina e redução do lúmen vascular (Canino 2) Obj. 10x. H.E.	67
<b>Figura 27</b>	Substância amorfa da Figura 26 corada de azul pelo Tricrômico de Masson (Canino 2) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.	67

<b>Figura 28</b>	Parte dos cardiomiócitos hipereosinofílicos com eventual picnose (detalhe) (Canino 5) Obj. 10x. H.E.	68
<b>Figura 29</b>	Os cardiomiócitos hipereosinofílicos visualizados na Figura 28 mostram-se hiperconcolorados (vermelho-arroxeados) pelo Tricrômico de Masson (detalhe) (Canino 5) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.	68
<b>Figura 30</b>	Cardiomiócitos com aumento da eosinofilia e eventual cariopicnose (detalhe) (Canino 15) Obj. 10x. H.E.	69
<b>Figura 31</b>	Grupo de cardiomiócitos hipereosinofílicos ao lado esquerdo da Figura 30 corado de vermelho-arroxeados pelo Tricrômico de Masson (detalhe) (Canino 15) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.	69
<b>Figura 32</b>	Cardiomiócitos hipereosinofílicos, com perda da estriação e eventual cariopicnose (Canino 15) Obj. 20x. H.E.	70
<b>Figura 33</b>	Cardiomiócitos hipereosinofílicos da Figura 32 corados de vermelho-arroxeados pelo Tricrômico de Masson (Canino 15) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.	70
<b>Figura 34</b>	Controle positivo da imunohistoquímica com anticorpo anti-cTnC. Acentuada marcação homogênea citoplasmática dos cardiomiócitos Obj. 40x	71
<b>Figura 35</b>	Controle negativo da imunohistoquímica com anticorpo anti-cTnC. Perda significativa da imunomarcação em miócitos necróticos Obj. 40x	71
<b>Figura 36</b>	Grande área bem delimitada com cardiomiócitos hipereosinofílicos (Canino 15) Obj. 4x. H.E.	72
<b>Figura 37</b>	Diminuição da expressão para o anticorpo anti-cTnC em área extensa e bem delimitada (Canino 15) Obj. 4x	72
<b>Figura 38</b>	Extensas áreas com cardiomiócitos hipereosinofílicos e ausência de estriação (Canino 14) Obj. 20x. H.E.	73
<b>Figura 39</b>	Diminuição da imunorreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns grupos de cardiomiócitos (Canino 14) Obj. 20x	73
<b>Figura 40</b>	Aumento da eosinofilia e perda de estriação de alguns grupos de cardiomiócitos e leve edema entre as fibras (Canino 5) Obj. 20x. H.E.	74
<b>Figura 41</b>	Diminuição da imunorreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns grupos de cardiomiócitos (Canino 5) Obj. 20x	74
<b>Figura 42</b>	Cardiomiócitos hipereosinofílicos, fragmentados, sem núcleo, leve edema entre as fibras (Canino 8) Obj. 40x. H.E.	75

<b>Figura 43</b>	Diminuição ou ausência da imunorreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns cardiomiócitos (Canino 8) Obj. 40x	75
<b>Figura 44</b>	Hipereosinofilia, ausência de estriações e picnose de alguns cardiomiócitos (Canino 4) Obj. 40x. H.E.	76
<b>Figura 45</b>	Acentuada diminuição da imunorreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns cardiomiócitos (Canino 4) Obj. 40x	76
<b>Figura 46</b>	Grupo de cardiomiócitos com hipereosinofilia citoplasmática, ausência de núcleo, fragmentação celular e leve edema entre as fibras (Canino 9) Obj. 40x. H.E.	77
<b>Figura 47</b>	Acentuada diminuição da imunorreatividade para o anticorpo anti-cTnC em grupo bem delimitado de cardiomiócitos (Canino 9) Obj. 40x	77
<b>Figura 48</b>	Cardiomiócitos com citoplasma hipereosinofílico, ausência de estriações e de núcleo e inflamação histiocítica moderada (Canino 22) Obj. 40x. H.E.	78
<b>Figura 49</b>	Acentuada diminuição a perda total da imunorreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns cardiomiócitos (Canino 22) Obj. 40x	78

## ÍNDICE DE QUADROS

		PÁGINA
<b>Quadro 1</b>	Funções dos seguimentos específicos do néfron	4
<b>Quadro 2</b>	Fases da Insuficiência Renal Aguda	7
<b>Quadro 3</b>	Fases do potencial de ação	16
<b>Quadro 4</b>	Subtipos da Síndrome Cardiorrenal	21
<b>Quadro 5</b>	Causas de troponinemia	32
<b>Quadro 6</b>	Identificação, principais achados laboratoriais e outras informações dos cães com Doença Renal Crônica	45
<b>Quadro 7</b>	Resultados dos exames macroscópico, microscópico e imunohistoquímico	48

## LISTA DE ABREVIACÕES

<b>AD</b>	Átrio Direito
<b>ADH</b>	Hormônio Anti-Diurético
<b>AE</b>	Átrio Esquerdo
<b>Ang. II</b>	Angiotensina II
<b>AR</b>	Receptor Adrenérgico
<b>CK</b>	Creatina Quinase
<b>cTnT</b>	Troponina T Cardíaca
<b>cTnI</b>	Troponina I Cardíaca
<b>cTnC</b>	Troponina C Cardíaca
<b>DAB</b>	Diaminobenzidina
<b>DR</b>	Doença Renal
<b>DRC</b>	Doença Renal Crônica
<b>ECA</b>	Enzima Conversora de Angiotensinogênio
<b>ECG</b>	Eletrocardiograma
<b>ET-1</b>	Endotelina-1
<b>FEC</b>	Fluido Extra-Celular
<b>FIC</b>	Fluido Intra-Celular
<b>Frag.</b>	Fragmento
<b>HCO<sup>-3</sup></b>	Bicarbonato
<b>H.A.F.T.</b>	Hematoxilina-Ácido Fosfotúngstica
<b>HE</b>	Hematoxilina-Eosina
<b>IAM</b>	Infarto Agudo do Miocárdio
<b>IHQ</b>	Imunohistoquímica
<b>IL</b>	Interleucina
<b>IRA</b>	Insuficiência Renal Aguda
<b>IRC</b>	Insuficiência Renal Crônica
<b>NADH</b>	Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
<b>NADPH-oxidase</b>	Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina Fosfato Oxidase
<b>NTA</b>	Necrose Tubular Aguda
<b>Obj.</b>	Objetiva
<b>PBS</b>	Phosphate Buffered Solution
<b>Prof<sup>a</sup></b>	Professora
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>PTH</b>	Paratormônio
<b>SCA</b>	Síndrome Coronária Aguda
<b>SCR</b>	Síndrome Cardiorrenal
<b>SNS</b>	Sistema Nervoso Simpático
<b>SRAA</b>	Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
<b>SRD</b>	Sem Raça Definida
<b>T°C</b>	Temperatura em Graus Celsius
<b>TFG</b>	Taxa de Filtração Glomerular
<b>TNF</b>	Fator de Necrose Tumoral
<b>TnT</b>	Troponina T
<b>TnC</b>	Troponina C
<b>TnI</b>	Troponina I
<b>UFBA</b>	Universidade Federal da Bahia
<b>UFRRJ</b>	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
<b>USG</b>	Ultrassonografia

## SUMÁRIO

	PÁGINA
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	3
2.1 Fisiologia Renal	3
2.1.1 Insuficiência Renal	5
2.1.2 Lesão Renal Aguda	6
2.1.2.1 Necrose Tubular Aguda	8
2.1.3 Doença Renal Crônica	9
2.1.4 Uremia	10
2.1.4.1 Lesões extra-renais observadas em cães com uremia	11
2.2 Fisiologia cardíaca	14
2.2.1 Hipercalemia	18
2.3 Síndrome cardiorenal	21
2.4 Marcadores celulares e plasmáticos utilizados na detecção imunohistoquímica de lesão cardíaca	28
2.4.1 Troponina	31
2.4.1.1 Imunohistoquímica com anticorpo antitroponina	35
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	39
3.1 Local	39
3.2 Procedência dos animais / realização de necropsia e coleta de amostras de tecidos	39
3.3 Critério para inclusão dos cães como nefropatas	39
3.3.1 Avaliação clínica	40
3.3.2 Ureia e creatinina	40
3.3.3 Exames complementares	40
3.3.4 Alterações macroscópicas e microscópicas	41
3.4 Dosagem de potássio	41
3.5 Histopatologia	41
3.6 Histoquímica	41
3.7 Imunohistoquímica	42
<b>4. RESULTADOS</b>	43
4.1 Dados clínicos e análise laboratorial	43
4.2 Avaliações macroscópicas, microscópicas, histoquímicas e imunohistoquímicas	43
<b>5. DISCUSSÃO</b>	79
5.1 Imunohistoquímica	79
5.2 Histopatologia	80
5.3 Síndrome Cardiorenal	82
5.4 Bioquímica	83
<b>6. CONCLUSÕES</b>	85
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	86

## 1 INTRODUÇÃO

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

As alterações cardíacas em seres humanos portadores de insuficiência renal crônica foram descritas pela primeira vez em 1947. Macroscopicamente, havia acentuada hipertrofia ventricular e fibrose e, ao exame histológico do miocárdio, observou-se edema intersticial intenso. Nesse estudo, sugeriu-se que a causa da morte havia sido a uremia, tendo em vista que a diálise clínica rotineira não era disponível na época (LANGENDORF; PIRANI, 1947). Portanto, coração e os rins mantêm estreita relação e a comunicação entre esses órgãos ocorre por uma variedade de vias; alterações fisiológicas sutis em um desses órgãos são compensadas pelo outro (VISWANATHAN; GILBERT, 2011).

A disfunção aguda ou crônica cardíaca pode induzir à lesão aguda ou crônica no rim e a modificação das funções renais pode alterar o funcionamento cardíaco, em um processo fisiopatológico denominado Síndrome Cardiorrenal (SCR) (RONCO; HOUSE; HAAPIO, 2008).

As cardiopatias, quando associadas às nefropatias, podem ter evolução mais rápida e difícil controle. A DRC pode provocar anemia, descontrole dos níveis de colesterol e triglicérides e dificultar o controle da pressão arterial. Além disso, acelera o processo de aterosclerose, com posterior calcificação e formação de placas ateromatosas nas artérias coronarianas e cerebrais, o que pode ocasionar infarto do miocárdio (SARTURI, 2007).

Diversas técnicas imunohistoquímicas com alta especificidade e sensibilidade têm sido desenvolvidas no intuito de se detectar dano aos cardiomiócitos, pois muitas vezes a coloração rotineira é limitada para identificar essas lesões (STIGGER et al., 2001; CARMO et al., 2011). Entre essas, a que utiliza Troponina C cardíaca tem apresentado bons resultados (ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a; PAVARINI et al., 2012; BANDINELLI et al., 2014; COSTA et al., 2014; SANTOS et al., 2014). Os cardiomiócitos necróticos, detectáveis ou não pelos exames rotineiros de microscopia óptica, apresentam imunomarcagem negativa, enquanto os não-afetados são positivos para a troponina (JENKINS et al., 2010).

Dessa forma, este trabalho teve como objetivos verificar correlação entre DRC e lesões cardiovasculares, a real extensão dessa lesão em cães, visto que alterações regressivas

incipientes podem não ser perceptíveis ou facilmente identificáveis apenas com a utilização da coloração rotineira pela hematoxilina e eosina.

Além disso, pretende-se avaliar a confiabilidade do teste imunohistoquímico com o uso do anticorpo antitroponina C humana na detecção de lesões cardíacas em cães com insuficiência renal.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Fisiologia renal

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

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

A regulação ácido-básica se dá predominantemente através de recuperação do bicarbonato do filtrado glomerular e do equilíbrio eletrolítico pela manutenção da concentração extracelular normal de íons (como potássio), pela reabsorção passiva nos túbulos proximais e da secreção tubular nos túbulos distais, sob a influência da aldosterona (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009). As principais funções dos vários segmentos do néfron estão descritas no Quadro 1 (DIBARTOLA, 2007).

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

eritrócitos (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009). A vitamina D precisa ser convertida nos rins para sua forma mais ativa, o calcitriol, e isso facilita a absorção de cálcio pelo intestino (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009).

### Quadro 1 - Funções dos segmentos específicos do néfron

Segmento do néfron	Principais funções
Glomérulo	. Filtração, formação do ultrafiltrado plasmático
Túbulo proximal	. Reabsorção isosmótica de 65-70% de água filtrada e de NaCl . Reabsorção de 90% de $\text{HCO}^{-3}$ filtrado . Principal local de produção de $\text{NH}_3$ . Reabsorção quase total de glicose e aminoácidos filtrados . Reabsorção de potássio, fosfato, cálcio, magnésio, ureia e urato . Secreção de ânions e cátions orgânicos . Secreção de $\text{H}^+$
Alça de Henle	. Multiplicador contracorrente devido à: . ramo descendente: reabsorção de água e secreção de sais e ureia . ramo ascendente: reabsorção de sais, impermeável à água, regulação da excreção de $\text{Mg}^{+2}$
Túbulo distal	. Reabsorção de pequena quantidade de NaCl . Controle ativo da excreção de cálcio
Ducto coletor medular	. Reabsorção ou secreção de potássio . Reabsorção final de NaCl . Reabsorção de ureia e água mediada pelo ADH . Secreção de íon $\text{H}^+$ e $\text{NH}_3$
Segmento conector e ducto coletor cortical	. Secreção de potássio mediado por aldosterona nas células principais . Secreção de íon $\text{H}^+$ . Reabsorção de potássio . Reabsorção de água mediada pelo ADH

Fonte: DIBARTOLA, 2007; AIRES, 2008c

### 2.1.1 Insuficiência renal

Para detectar a lesão renal podemos utilizar testes laboratoriais (como exame de sangue e urina), histopatologia do rim ou avaliação de imagens, como radiografias e ultrassonografias (USG) (LUNN, 2011), mas o ideal é unir os dados clínicos com os resultados desses exames.

Com a perda progressiva da função renal, a capacidade dos rins de concentrarem a urina diminui gradativamente, o que pode ser uma informação válida na avaliação do paciente (JUNIOR; WILLIAMS, 2010). A substância mais usada para avaliar a filtração glomerular é a creatinina, substância resultante do metabolismo da creatina presente na musculatura esquelética (AIRES, 2008b). Como sua produção é constante e ela é filtrada pelos glomérulos, sua depuração é praticamente igual à taxa de filtração glomerular, então é um teste preciso e confiável da função renal; o nível sérico de creatinina não é influenciado pela ingestão dietética nem pelo estado de hidratação (JUNIOR; WILLIAMS, 2010). A ureia é o principal catabólito do metabolismo protéico e a principal via de excreção dessa substância é a urina, ou seja, trata-se de um parâmetro acessível da suficiência ou insuficiência renal (AIRES, 2008a). Ao contrário da creatinina, a ureia é influenciada pela ingestão de proteínas dietéticas, pelo estado de hidratação e por sangramento gastrointestinal, por isso altos níveis de ureia são menos específicos para indicar uma insuficiência renal do que a creatinina, mas a relação entre elas pode fornecer indícios diagnósticos específicos (JUNIOR; WILLIAMS, 2010).

As doenças que acometem os rins são extremamente complexas quanto à sua estrutura e costuma-se dividi-las conforme o(s) componente(s) morfológico(s) acometido(s), isto é, glomérulos, túbulos, interstício e/ou vasos sanguíneos. As doenças que afetam cada uma destas estruturas manifestam-se inicialmente de forma distinta e algumas destas estruturas parecem ser mais vulneráveis a formas específicas de lesão renal, como por exemplo, imunologicamente mediada no caso de doenças glomerulares, e agentes tóxicos ou infecciosos nos distúrbios tubulares e intersticiais; alguns agentes podem afetar mais de uma estrutura. Por outro lado, a interdependência anatômica e funcional entre as estruturas dos rins implica que a lesão de uma delas quase sempre irá afetar secundariamente as outras estruturas. Por conseguinte, qualquer que seja a origem, todas as formas de doença renal tendem, na fase final, a destruir todos os quatro componentes do rim, culminando em insuficiência renal crônica (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000). A severidade da doença renal e as implicações para a terapia e prognóstico podem variar entre os pacientes (LUNN, 2011).

As substâncias normalmente eliminadas na urina acumulam-se em consequência da excreção renal comprometida, e levam a uma ruptura nas funções metabólicas e endócrinas, bem como a distúrbios hidroeletrolítico e ácido-básico (RIBEIRO et al., 2008).

### **2.1.2 Lesão Renal Aguda**

A insuficiência renal aguda (IRA) pode ser definida como perda da função renal, de maneira súbita, independentemente da etiologia ou mecanismos, que provoca acúmulo de substâncias nitrogenadas (ureia e creatinina), acompanhadas ou não da diminuição da diurese (COSTA; VIEIRA-NETO; NETO, 2003). A capacidade da função renal diminui em 75% (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009). Ocorre um declínio rápido, porém potencialmente reversível, da função renal, que incluem queda nas taxas de filtração glomerular (SINGH et al., 2012), distúrbios nos equilíbrios hídrico, eletrolítico e ácido-básico (VADEN; LEVINE; BREITSCHWERDT, 1997). A IRA pode ser causada por fatores pré-renais, renais e pós-renais (VADEN; LEVINE; BREITSCHWERDT, 1997; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009; SINGH et al., 2012). Na IRA pré-renal, ocorre diminuição da perfusão renal (como em casos de hipovolemia, choque ou isquemia), já fatores renais estão associados a danos causados ao néfron e os pós-renais a obstrução do trato urinário (SINGH et al., 2012). As causas mais comumente encontradas para a IRA são a ocorrência de um evento isquêmico ou pela exposição a um agente nefrotóxico (XAVIER et al., 2008). Segundo Thomovsky e Plunkett (2013), as nefrotoxinas conhecidas incluem agentes terapêuticos como analgésicos, anti-helmínticos, antifúngicos, antimicrobianos, agentes quimioterápicos, bem como outros medicamentos utilizados na clínica como anestésicos e agentes de contraste radiográfico e também outras substâncias como metais pesados, veneno de cobra, compostos orgânicos e pigmentos.

Agentes infecciosos como bactérias que causam a pielonefrite aguda, *Leptospira* sp. e microorganismos riquetsianos podem resultar em IRA por mecanismo inflamatório direto ou por vasculite extensa (LANGSTON, 2011; XAVIER et al., 2008). Outros agentes infecciosos como *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Babesia* e *Leishmania* também podem levar a este quadro (LANGSTON, 2009).

Causas iatrogênicas, incluindo hipotensão e hipovolemia, relacionadas à cirurgia ou anestesia, e tratamento com vasodilatadores também podem causar IRA. A disfunção renal

aguda também pode ser originada por neoplasia renal, hipercalcemia, traumatismo, raticidas e doenças imunomediadas (XAVIER et al., 2008).

Classicamente a IRA é dividida em três fases, porém atualmente a fase tardia da fase de iniciação é considerada fase de extensão, como descrito no Quadro 2.

**Quadro 2 - Fases da Insuficiência Renal Aguda**

Fase	Definição	Tempo de duração	Alterações renais	Manifestações clínicas
Iniciação	Animal sujeito ao insulto renal	—	Lesão do parênquima evolui, epitélio sofre injúria subletal mas potencialmente reversível	Não são aparentes
Extensão	Progressão da fase de iniciação	A fase de iniciação junto com a fase de extensão duram de horas a dias.	Alterações na perfusão renal, contínua hipóxia, inflamação secundária, progressão da injúria epitelial e endotelial (pode levar a necrose ou apoptose)	Não são aparentes
Manutenção	Após lesão irreversível no epitélio renal	De dias a semanas	Taxa de filtração glomerular diminuída, alteração do fluxo sanguíneo local	Diminuído volume de urina, início do aparecimento das complicações da uremia. O animal pode morrer pela uremia ou evoluir para a próxima fase.
Recuperação	Regeneração e reparo com restauração da função renal	—	Recuperação celular da injúria, remoção de debris intratubulares, re-epitelização do túbulo	Aumento da diurese e progressiva resolução da uremia. O animal pode se tornar um paciente com Doença Renal Crônica ou se recuperar por completo.

Fonte: COWGILL; FRANCEY, 2005

### **2.1.2.1 Necrose Tubular Aguda**

Em cães, a IRA é causada principalmente por uma necrose tubular aguda (NTA) (XAVIER et al., 2008), que pode ser determinada por insulto isquêmico ou tóxico às células epiteliais dos túbulos renais (MAXIE; NEWMAN, 2007; DIVERS, 1993; CONFER; PANCIEIRA, 1998; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000; RADOSTITS et al., 2002); essa condição muitas vezes é denominada nefrose renal (CONFER; PANCIEIRA, 1998; MAXIE; NEWMAN, 2007; DIVERS, 1993). Independentemente da lesão ser isquêmica ou tóxica, os eventos levam à dano tubular acompanhados por graves e persistentes distúrbios do fluxo sanguíneo (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000). Os túbulos renais, principalmente os proximais e os ramos ascendentes espessos, por serem metabolicamente muito ativos são mais susceptíveis à isquemia e nefrotoxinas (MAXIE; NEWMAN, 2007; CONFER; PANCIEIRA, 1998; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000). Em resposta às agressões, as células epiteliais tubulares se degeneram, necrosam e, posteriormente, descamam para a luz tubular (CONFER; PANCIEIRA, 1998). Vários fatores predisõem os túbulos à lesão tóxica, incluindo uma extensa superfície eletricamente carregada para reabsorção tubular, sistema de transporte ativo para íons e ácidos orgânicos e capacidade de concentração ativa (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000). Particularmente, ainda no caso dos túbulos proximais, pode haver a inativação do sistema de enzimas pela sua ampla exposição aos agentes tóxicos durante a absorção do ultrafiltrado para a formação de urina (MAXIE; NEWMAN, 2007).

Animais que desenvolvem necrose tubular acentuada, com frequência apresentam sinais de uremia caracteristicamente associados a um decréscimo (oligúria) ou ausência (anúria) na produção de urina (CONFER; PANCIEIRA, 1998). Por outro lado, a patogenia da falha renal aguda com oligúria, tanto na NTA tóxica quanto na isquêmica, gera controvérsias (MAXIE; NEWMAN, 2007). O edema intersticial e a obstrução intratubular por epitélio necrótico descamado impedem o fluxo do filtrado glomerular para os túbulos (MAXIE; NEWMAN, 2007; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000; RADOSTITS et al., 2002). Nos casos de lesão tubular marcada, pode haver drenagem retrógrada do filtrado glomerular para o interstício (MAXIE; NEWMAN, 2007; CONFER; PANCIEIRA, 1998; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000; RADOSTITS et al., 2002). Além disso, pela ativação do sistema renina – angiotensina, em especial nos néfrons do córtex, há decréscimo do fluxo sanguíneo e da taxa de filtração glomerular (TFG), que resulta em formação reduzida de urina (MAXIE; NEWMAN, 2007; CONFER; PANCIEIRA, 1998; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000).

Na necropsia, o reconhecimento da NTA é difícil; os rins estão tumefeitos, a superfície capsular está lisa e pálida, com aspecto translúcido. A superfície de corte é usualmente pálida e muito úmida. As estriações normais podem estar um pouco mais evidentes ou pode haver sua acentuação pelo aparecimento de listras brancas, opacas e orientadas radialmente (CONFER; PANCIEIRA, 1998). Os achados microscópicos dos rins podem ser variáveis, na dependência da gravidade e da duração da exposição à lesão, bem como do intervalo de tempo entre o insulto e a morte (MAXIE; NEWMAN, 2007; CONFER; PANCIEIRA, 1998). A necrose tubular pode ser totalmente inespecífica, porém podem haver pequenas diferenças nas lesões provocadas por certos agentes (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000). Na necrose tubular tóxica, predominantemente proximal, há preservação da membrana basal das células epiteliais (MAXIE; NEWMAN, 2007; CONFER; PANCIEIRA, 1998); em insultos isquêmicos, porém, haveria o rompimento dessas membranas (MAXIE; NEWMAN, 2007; DIVERS, 1993; CONFER; PANCIEIRA, 1998; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000).

Os níveis de potássio no sangue podem estar elevados na IRA e causar alterações na condução elétrica e por isso a hipercalemia é o principal distúrbio eletrolítico que oferece risco de vida aos cães com IRA devido às alterações nos batimentos cardíacos (COWGILL; FRANCEY, 2005).

### **2.1.3 Doença Renal Crônica**

Dependendo da proporção do parênquima renal afetado e da severidade e duração das lesões, a doença renal pode ou não levar a uma insuficiência renal, então o termo insuficiência renal não deve ser usado como sinônimo de doença renal (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005). A doença renal crônica (DRC) é a enfermidade renal mais encontrada em cães e é caracterizada por uma lesão estrutural irreversível das unidades funcionais do rim (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005). Mesmo sendo frequentemente considerada uma doença de animais idosos (mais comum em gatos idosos), a DRC pode ocorrer em qualquer idade (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005), inclusive em cães com menos de um ano (KRAWIEC, 1987). Para ser considerada crônica, a lesão renal deve estar instalada por no mínimo três meses, com ou sem decréscimo da taxa de filtração glomerular, ou quando temos 50% de redução da taxa de filtração glomerular persistindo por no mínimo o mesmo tempo. A duração de no mínimo três meses é um critério recomendado para confirmar a DRC baseado na observação de que a

hipertrofia compensatória e melhoria na função renal podem continuar por até três meses após a perda aguda dos néfrons (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005).

É difícil determinar a causa da DRC, pois devido à interdependência dos componentes tubulares e vasculares do néfron, o ponto final do dano irreversível do glomérulo ou do túbulo é o mesmo (GRAUER, 2009). As causas da DRC podem ser congênita, como em rins policísticos ou nefropatia hereditária em cães da raça Lhasa Apso; amiloidose, inflamatórias e infecciosas como pielonefrite; IRA mal resolvida e até mesmo disfunções imunológicas como lúpus eritematoso sistêmico (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005; GRANT; FORRESTER, 2006; GRAUER, 2009).

Alguns sinais clínicos diferenciam a insuficiência renal aguda da doença renal crônica e são usados na clínica para determiná-las. No quadro crônico da doença observam-se inapetência, depressão, vômito e perda de peso que ocorre de forma progressiva e geralmente persiste de semanas a meses, ao passo que a IRA tem um início súbito desses sintomas. Poliúria e polidipsia são sinais clínicos comuns na doença crônica, enquanto na forma aguda geralmente há diminuição do volume urinário. A creatinina e a ureia séricas estão aumentadas, porém estáveis no quadro crônico, enquanto na IRA essas substâncias aumentam progressivamente (GRANT; FORRESTER, 2006).

Nenhum tratamento pode reverter as lesões já instaladas, pois as alterações compensatórias para sustentar a função renal já ocorreram. Porém, as consequências clínicas e bioquímicas da reduzida função renal podem ser melhoradas com uma terapia de suporte e sintomática (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005).

#### **2.1.4 Uremia**

Esse termo foi originalmente adotado, pois todas as alterações que ocorrem nessa síndrome eram atribuídas ao acúmulo de produtos finais do metabolismo, que deveriam ser excretados pelo rim através da urina (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005).

A uremia é uma síndrome complexa, caracterizada por distúrbios bioquímicos, sinais clínicos e lesões extra-renais e, em cães e outras espécies, resulta de azotemia prolongada (CHEVILLE, 1979). Esse distúrbio envolve alterações bioquímicas, tais como deficiência na conservação de água, desequilíbrios eletrolítico e ácido-básico, deficiência na excreção de ureia e creatinina e de outros restos metabólicos nitrogenados não protéicos, além de mudanças nos metabolismos hormonal e endócrino (MASSRY; GOLDSTEIN, 1978;

POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005; MAXIE; NEWMAN, 2007). Diversas funções metabólicas e endócrinas que são realizadas pelo rim também estarão comprometidas e isso resulta em anemia, má nutrição, alteração no metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas, má utilização de energia e alteração na imunidade (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005).

Os sinais clínicos de uremia podem variar individualmente dependendo da natureza, intensidade e evolução da doença envolvida (POLZIN; OSBORNE, 2005). A causa da morte na uremia pode resultar da cardiotoxicidade decorrente da hipercalemia, da acidose metabólica, da hipocalcemia ou do edema pulmonar (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009; MAXIE; NEWMAN, 2007). Todas as doenças renais progressivas convergem para essa síndrome (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005).

#### **2.1.4.1 Lesões extra-renais observadas em cães com uremia**

As lesões extra-renais de uremia podem ser desencadeadas por glomerulonefrite crônica, nefrose tubular aguda, associação de nefrose tubular e nefrite intersticial agudas, nefrite intersticial crônica, nefrite intersticial subaguda, infarto, glomerulonefrite subaguda, associação de glomerulonefrite e nefrite intersticial crônicas, cistadenocarcinoma bilateral e amiloidose. Uremia de origem pós-renal pode ser causada por urolitíase na pelve ou urolitíase vesical e uretral, associadas à pielonefrite crônica e pielonefrite aguda, respectivamente (DANTAS; KOMMERS, 1997). As lesões ocorrem de forma inconstante e imprevisível, especialmente em cães com doença renal crônica (DRC) e são frequentemente observadas nos sistemas gastrintestinal, cardiovascular, respiratório e esquelético (MAXIE; NEWMAN, 2007). A mineralização pode ocorrer em diversos tecidos moles e é classificada como metastática ou distrófica, ou seja, pode ocorrer de forma secundária ao desequilíbrio de cálcio e fósforo que ocorre na doença renal ou por injúrias às células, respectivamente (ALFREY, 2004).

No sistema digestório, observam-se lesões na cavidade oral, com ulcerações irregulares, recobertas por películas ou placas planas, elevadas e amareladas nos bordos da face ventral da língua e na mucosa oral. Há necrose focal do epitélio de revestimento da mucosa, associada à presença de infiltrado inflamatório, predominantemente neutrofílico e fibrina, estendendo-se à lâmina própria. No estômago, verificam-se gastropatia urêmica, caracterizada por avermelhamento parcial ou difuso da mucosa, com espessamento das pregas

gástricas por edema, erosões e ulcerações principalmente na região fúndica. Pode haver forte odor amoniacal na mucosa gástrica, além de edema, congestão e hemorragia, principalmente no topo das pregas glandulares. O exame histológico revela, na submucosa, arteriopatia, caracterizada por necrose fibrinoide, muitas vezes associada à mineralização e à presença de neutrófilos perivasculares. Na camada muscular, necrose e mineralização de fibras musculares podem estar presentes (CONFER; PANCIERA, 1998; MAXIE; NEWMAN, 2007).

No sistema respiratório verificam-se, principalmente pneumopatia urêmica e edema pulmonar. A pneumopatia urêmica caracteriza-se por pulmões não colapsados, pálidos, mais firmes, pesados e resistentes ao corte. Em alguns casos, observam-se granulações firmes e de consistência arenosa na pleura visceral e líquido esbranquiçado espumoso nos brônquios principais. Microscopicamente, há mineralização dos septos interalveolares, com edema, fibrina e infiltrado inflamatório constituído por neutrófilos e linfócitos na luz alveolar. Pode haver mineralização da pleura parietal, caracterizada por estriações paralelas, esbranquiçadas ou amareladas e elevadas nos espaços intercostais, além de áreas de calcificação associadas a infiltrado de polimorfonucleares e mononucleares, algumas vezes invadindo os músculos intercostais subjacentes (DANTAS; KOMMERS, 1997; MAXIE; NEWMAN, 2007).

No sistema cardiovascular, a degeneração arterial é mais frequente em pequenas artérias musculares e arteríolas da camada submucosa do estômago, língua, cólon, vesícula biliar, bexiga e rins e menos frequentemente, são observadas nas artérias do intestino delgado e miocárdio. Essas lesões, em conjunto com a degeneração de capilares, produzem isquemia e contribuem para lesões macroscópicas da uremia, como as que acometem o trato gastrointestinal (MAXIE; ROBINSON, 2007).

A degeneração hialina, a necrose fibrinóide e a amiloidose são lesões vasculares das pequenas artérias e arteríolas musculares. O padrão microscópico compartilhado por essas lesões é a formação de uma zona eosinofílica homogênea na parede vascular (VLEET; FERRANS, 2009). O termo “degeneração hialina” na verdade se refere à aparência microscópica da lesão de forma generalizada, relacionado com o material amorfo e eosinofílico que se acumula na parede do vaso. A necrose fibrinóide é vista frequentemente nos vasos de cães urêmicos e pode também ser associada à hipertensão, cuja causa mais comum nessa espécie e em gatos é a doença renal, embora este seja um achado bastante incomum em animais se comparado a humanos. Esse tipo de lesão ocorre secundário a dano endotelial e é caracterizada pela entrada e acúmulo de proteínas séricas seguida pela polimerização de fibrina na parede vascular, formando um material intensamente eosinofílico

que dificulta a visualização dos detalhes celulares. Microscopicamente, esses achados consistem em deposição subendotelial de fibrina, ruptura da lâmina interna elástica, necrose do músculo liso da camada média, mineralização e, algumas vezes, inflamação neutrofílica, levando a uma arterite. A necrose fibrinóide é frequente em diversas doenças agudas degenerativas e inflamatórias de pequenas artérias e arteríolas, como deficiência de vitamina E e selênio em porcos (no coração), angiopatia cerebrospinal (meninges) e doença do edema (submucosa gástrica). A hialinização hipertrófica (ou hialinose) é observada em cães idosos e há depósito hialino, predominantemente composto por fibrina e glicosaminoglicanos ou menos comumente amilóide, com espessamento da íntima do vaso. A hialinose afeta principalmente coronárias intramurais (podendo causar infartos multifocais intramurais do miocárdio) e vasos pequenos da meninge e cérebro (MAXIE; ROBINSON, 2007; VLEET; FERRANS, 2009).

Em humanos a necrose fibrinóide da arteríola aferente do rim é considerada a marca da hipertensão maligna. Usualmente ocorre sobreposta a uma lesão hiperplásica ou hialina prévia. Há um processo necrotizante na média dos vasos e posteriormente deposição de material extremamente eosinofílico e fibrilar, demonstrado por técnicas histoquímicas e imunofluorescentes como fibrina e fibrinogênio. O lúmen pode ficar reduzido de tamanho pelo espessamento da parede, extravasamento de hemácias e trombose intraluminal. A poliarterite nodosa causa uma vasculite necrotizante que afeta artérias de médio-calibre como artéria renal, interlobar e arqueada e as lesões são usualmente focais, caracterizada por necrose fibrinóide e inflamação leucocítica, às vezes associada com trombose e pode levar a hipertensão severa a maligna (ORDÓÑEZ; ROSAI, 2004).

Em humanos, a calcificação vascular é um processo ativo de ossificação dos vasos, extremamente frequente na uremia, e que contribui para a elevada mortalidade cardiovascular presente nesta população (CANZIANI; MOYSÉS, 2008). Alterações no endocárdio do átrio esquerdo se apresentam como placas irregulares, elevadas, branco-amareladas, às vezes associadas à presença de trombos aderidos à parede do átrio. Essas placas correspondem, microscopicamente, a áreas de degeneração e necrose subendocárdicas, associadas à mineralização, infiltrado inflamatório mononuclear e, às vezes, à trombose. Podem ser evidenciadas áreas branco-amareladas, irregulares no miocárdio, que correspondem à necrose e mineralização de fibras miocárdicas associadas a necrose fibrinóide, mineralização e trombose em ramos da artéria coronária (DANTAS; KOMMERS, 1997).

No sistema esquelético, os ossos das costelas podem estar amolecidos e menos resistentes à tração, o que caracteriza a osteodistrofia fibrosa (DANTAS; KOMMERS, 1997). A osteodistrofia fibrosa pode ocorrer em cães com DRC, pois com o decréscimo da eficiência da filtração glomerular, ocorre uma hiperfosfatemia. Com isso, há o desequilíbrio da relação entre cálcio e fósforo e se instala uma hipocalcemia relativa que estimula a liberação de paratormônio (PTH), para promover a reabsorção óssea (THOMPSON, 2007). Isso leva a um aumento das paratireoides (DANTAS; KOMMERS, 1997; MAXIE; NEWMAN, 2007) e, microscopicamente, as células principais encontram-se hipertrofiadas, mais claras e com o citoplasma vacuolizado (DANTAS; KOMMERS, 1997). A deficiência na síntese de 1,25-diidroxitamina D também contribui para a hipocalcemia, pois diminui a reabsorção de cálcio no intestino. A reabsorção óssea da mandíbula e da maxila resultam em substituição por tecido fibroso e, como consequência, esses ossos se tornam mais macios e maleáveis; essa lesão é conhecida por “mandíbula de borracha” (THOMPSON, 2007).

## **2.2 Fisiologia cardíaca**

Existem três tipos principais de músculo que compõem o coração: atrial, ventricular e fibras especializadas excitatórias e condutoras. Os tipos atrial e ventricular contraem-se quase como os músculos esqueléticos, porém a duração da contração é maior; já as fibras excitatórias e de condução se contraem fracamente, entretanto apresentam descargas elétricas rítmicas automáticas, na forma de potenciais de ação, ou fazem a condução desses potenciais de ação pelo coração (GUYTON; HALL, 2011). O potencial transmembrana de uma célula depende basicamente das concentrações dos íons nas duas faces da membrana plasmática (portanto, o potencial de equilíbrio desses íons) e das condutâncias da membrana à esses íons (facilidade que a membrana se deixa permear por esses íons) a cada momento (NASCIMENTO et al., 2008). O potássio é o principal cátion intracelular das células dos mamíferos e o sódio é o principal cátion extracelular. No fluido extra-celular (FEC) a concentração de sódio é de 140 mEq/L e a de potássio 4 mEq/L; já no fluido intra-celular (FIC) temos a concentração de 10 mEq/L de sódio e 140 mEq/L de potássio, que é um íon fundamental no meio intracelular para manter o volume celular normal, atividade de enzimas que sintetizam ácido nucléico, glicogênio e proteínas. A manutenção da concentração de potássio dentro dos limites no FEC é essencial para evitar risco de morte pela influência da hipercalemia na condução cardíaca (DIBARTOLA; MORAIS, 2007).

Durante o repouso, o miocárdio apresenta maior condutância da membrana ao potássio do que condutância ao sódio (cerca de 50 vezes) e, por isso, o potencial de repouso depende mais do potássio do que do sódio e tem valor próximo ao potencial de equilíbrio do potássio (NASCIMENTO et al., 2008). Em um estudo com cães, o potencial de membrana celular em repouso do grupo de animais controle foi -90,1 mV (BILBREY et al., 1973). A manutenção do potencial de repouso dentro da faixa entre -80 mV e -90 mV é fundamental para o funcionamento correto das células cardíacas, pois os principais canais iônicos responsáveis pela atividade elétrica cardíaca são dependentes de voltagem (NASCIMENTO et al., 2008).

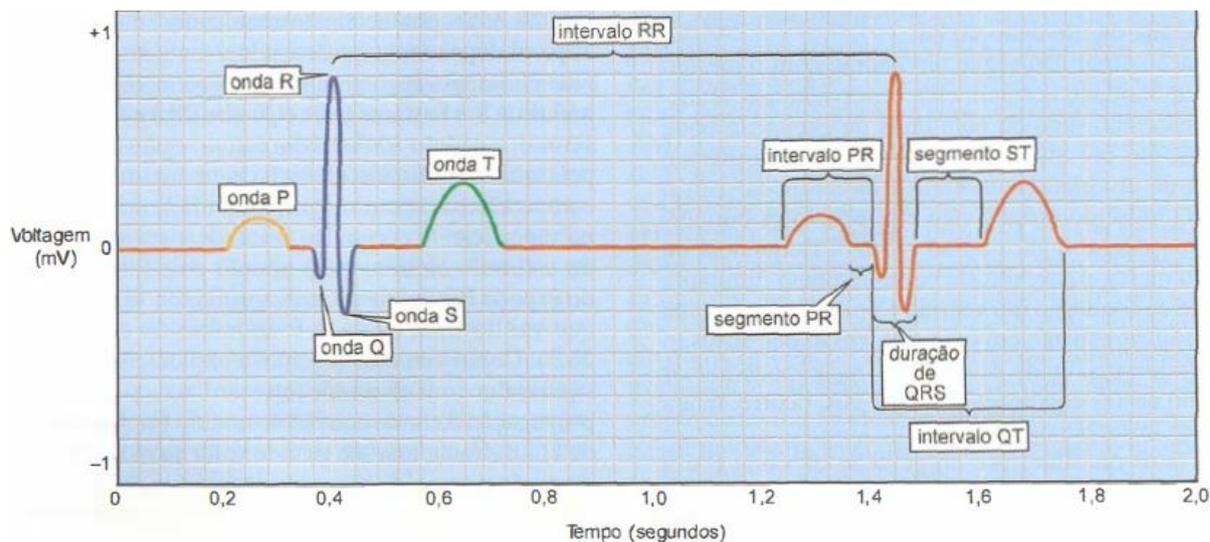
Ativação ou despolarização cardíaca, em condições normais, tem origem no nódulo sinusal, região do marca-passo cardíaco, localizado no átrio direito, sendo esta a primeira área do coração a se despolarizar. O estímulo alcança, em sequência, o átrio esquerdo, o nódulo atrioventricular, o feixe de His e seus ramos (esquerdo e direito), a rede de Purkinje, os ventrículos e, por fim, se extingue (FELDMAN; GOLDWASSER, 2004). O potencial de ação cardíaco varia de acordo com a região do coração, e isso ocorre porque, durante um potencial de ação, as condutâncias aos vários íons variam, e o potencial transmembrana terá a cada momento valores definidos para relação entre as várias condutâncias, estando sempre mais próximo do potencial de equilíbrio do íon cuja condutância seja predominante no momento. As etapas do potencial de ação são divididas em fases. A fase 0 representa a despolarização, a fase 1 a repolarização, a fase 2 o platô, a fase 3 a repolarização e a fase 4 o retorno ao nível de repouso. Levando em consideração o nível do potencial de repouso, a velocidade de despolarização da fase 0, os potenciais de ação cardíacos são divididos em dois tipos: potencial de ação rápido e potencial de ação lento (NASCIMENTO et al., 2008). Os principais acontecimentos em cada fase nos diferentes potenciais estão descritos no Quadro 3.

### Quadro 3 - Fases do potencial de ação

	<b>Potencial de ação RÁPIDO (átrio, ventrículo, feixe de His, fibras de Purkinje)</b>	<b>Potencial de ação LENTO (Nodo sinoatrial e nodo atrioventricular)</b>
Fase 0	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Ocorre despolarização até um nível limiar</li> <li>. Condutância da membrana se torna muito maior ao sódio do que ao potássio</li> <li>. Canais de sódio voltagem dependentes de sódio se abrem</li> <li>. Alto influxo de sódio</li> <li>. Ocorre rápida e grande despolarização (maiores velocidades nas fibras de Purkinje).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Corrente de cálcio do tipo L</li> <li>. Ativação lenta e densidade de corrente bem inferior aos canais de sódio do potencial de ação rápido</li> <li>. Fase mais lenta</li> </ul>
Fase 1	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Despolarização ativa canais de potássio transiente de efluxo</li> <li>. Rápido e momentâneo aumento de condutância ao potássio.</li> <li>. Efluxo de potássio.</li> <li>. As rápidas cinéticas de ativação e inativação deste canal explicam a pronta instalação desta fase de repolarização e seu caráter transitório.</li> <li>. Nas fibras de Purkinje há participação de corrente de efluxo de cloreto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Não há fase 1 propriamente dita</li> </ul>
Fase 2	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Platô</li> <li>. Correntes de efluxo e influxo são pequenas e amplitudes praticamente iguais</li> <li>. Relativamente estável</li> <li>. Canais de cálcio tipo lento</li> <li>. Influxo de cálcio</li> <li>. Bomba sódio/potássio com efeito mais proeminente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Não há período de platô com a membrana com um momento estável.</li> </ul>
Fase 3	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Canais de potássio dependentes de voltagem, retificadores retardados</li> <li>. Efluxo de potássio</li> <li>. Volta a predominar condutância da membrana maior ao potássio</li> <li>. Rápida repolarização</li> <li>. Peculiaridades dos diferentes tipos de canais retificadores retardados predominantes nas diferentes regiões do coração e também nas diferentes espécies de animais são uma das causas da grande variabilidade na morfologia do potencial de ação</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Repolarização lenta e contínua</li> <li>. Canais de efluxo de potássio</li> </ul>
Fase 4	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Balanço entre correntes de efluxo e influxo</li> <li>. Corrente efetiva nula</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Despolarização lenta (despolarização diastólica)</li> <li>. Potenciais de ação automáticos</li> <li>. Prossegue até desencadear a fase 0</li> <li>. Nodo sino atrial apresenta a despolarização diastólica mais rápida, o que traduz em maior frequência de disparo, por isso é denominado marcapasso cardíaco</li> <li>. Estímulo sinusal alcança o nodo átrio ventricular e as fibras de Purkinje antes que estas estruturas atinjam seu potencial limiar</li> </ul>

Fonte: NASCIMENTO et al., 2008

O eletrocardiograma mostra ondas que representam voltagens elétricas geradas pelo coração e registradas pelo eletrocardiógrafo na superfície do corpo, em que cada onda se relaciona com uma fase do ciclo cardíaco (GUYTON; HALL, 2011). Desta forma, a voltagem ou amplitude das ondas é indicada no eixo vertical e as durações dos processos, no eixo horizontal dos registros, como representado na Figura 1 (MILL, 2008). A ativação atrial inicia-se no átrio direito (AD), se estende ao átrio esquerdo (AE) e a deflexão resultante é denominada ONDA P (FELDMAN; GOLDWASSER, 2004). Essa onda é causada pela disseminação da despolarização pelos átrios, seguido pela contração atrial, que causa aumento discreto na curva de pressão imediatamente após a onda P eletrocardiográfica (GUYTON; HALL, 2011). A ativação do nódulo atrioventricular e do feixe de His não produz ondas registráveis no ECG convencional (FELDMAN; GOLDWASSER, 2004). A ativação ventricular é representada por quatro vetores cardíacos; dois vetores correspondem às despolarizações das regiões do septo interventricular e outros dois às despolarizações das paredes dos ventrículos com amplo predomínio vetorial do ventrículo esquerdo. A deflexão resultante é denominada COMPLEXO QRS (FELDMAN; GOLDWASSER, 2004), e essa despolarização elétrica dos ventrículos inicia a contração ventricular e faz com que a pressão aumente (GUYTON; HALL, 2011). A onda T ventricular representa o estágio de repolarização dos ventrículos, quando suas fibras musculares começam a relaxar e, por isso, essa onda surge pouco antes do final da contração ventricular (FELDMAN; GOLDWASSER, 2004; GUYTON; HALL, 2011). Inicialmente, as correntes elétricas desenvolvidas não são intensas e não causam deflexão, sendo inscrita uma linha isoeletrica. Porém, a seguir, surgem potenciais mais intensos que determinam a inscrição da deflexão resultante, denominada ONDA T. A repolarização atrial (ONDA Ta) não é identificada no ECG normal (FELDMAN; GOLDWASSER, 2004).



**Figura 1-** Representação gráfica de um registro eletrocardiográfico padrão, mostrando a nomenclatura das ondas, intervalos e segmentos (MILL, 2008)

### 2.2.1 Hipercalemia

O potássio é o principal cátion intracelular. A manutenção da sua concentração é essencial para a diferença de potencial através da membrana celular e, desta maneira, determinante na excitabilidade neuromuscular e contratilidade muscular (AIRES, 2008a). A remoção do potássio do organismo é feita majoritariamente pela excreção renal (LANGSTON, 2008).

A hipercalemia resulta de um aumento total do potássio no corpo secundário a um desequilíbrio de ingestão/excreção ou a partir de uma má distribuição entre o meio intra e extracelular (LEHNHARDT; KEMPER, 2011), com concentração desse íon maior que 5,5 mEq/l (AIRES, 2008a). A ingestão excessiva só tem relevância quando se trata de excessiva infusão de fluido enriquecido com potássio (DIBARTOLA, 2001). Diuréticos poupadores de potássio como espirolactona reduzem a excreção desse cátion na urina, e isso pode levar a uma hipercalemia (DIBARTOLA, 2001). A má distribuição se dá quando o equilíbrio entre potássio intracelular e extracelular é alterado, como em casos de acidose metabólica, em que potássio é translocado para fora da célula e um íon de hidrogênio vai para o interior da célula (DIBARTOLA, 2001; LANGSTON, 2008). Em animais, a diminuição da excreção de urina é a causa mais importante de hipercalemia (DIBARTOLA, 2001).

Na hipercalemia, o potencial de repouso da membrana celular é reduzido, e há um aumento da excitabilidade dos neurônios, das células cardíacas e musculares, bem como

aumento do potencial de repouso (torna-o mais negativo) e hiperpolarização da célula (DIBARTOLA; MORAIS, 2007).

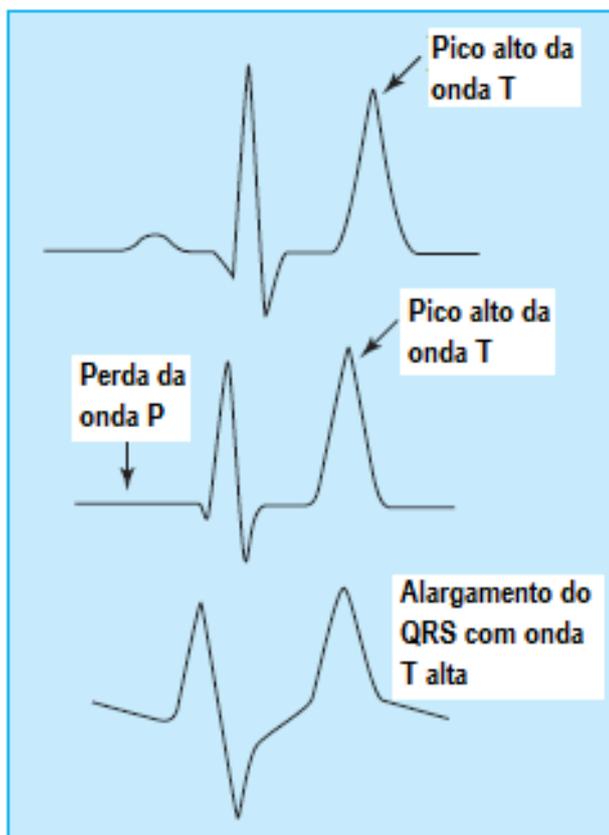
Em pacientes hospitalizados, a hipercalemia é um distúrbio eletrolítico comum e potencialmente fatal (MONTAGUE; OUELLETTE; BULLER, 2008) e, em cães, essa alteração também pode ser nociva à saúde (LANGSTON, 2008). Frequentemente, os sintomas são inespecíficos e incluem vômitos, náuseas, contrações musculares e dor abdominal (WRENN; SLOVIS; SLOVIS, 1991). Fraqueza muscular pode estar presente em pacientes com concentrações séricas de potássio acima de 8 mEq/L (DIBARTOLA, 2001).

A insuficiência renal aguda e crônica são os diagnósticos mais frequentes nos pacientes com hipercalemia, porém esse desequilíbrio eletrolítico também tem sido associado à utilização de medicamentos como  $\beta$  bloqueadores, inibidores da enzima conversora de angiotensina, diuréticos poupadores de potássio e anti-inflamatórios não esteroidais, principalmente em pacientes de risco, como os hipertensos, os diabéticos e os hipovolêmicos (MONTAGUE; OUELLETTE; BULLER, 2008; LEHNHARDT; MELGAÇO et al., 2010; KEMPER, 2011). Nos casos de doença renal, só haverá um quadro de hipercalemia em casos anúria ou oligúria, mais comuns na insuficiência renal aguda, mas que também ocorre na fase terminal dos casos crônicos (DIBARTOLA, 2001).

Além da insuficiência renal, a hipercalemia também pode ser observada no hipoadrenocorticismo (EMANUELLI et al., 2007) e no diabetes mellitus (STEVENS; DUNLAY, 2000). Em pacientes diabéticos, a deficiência de insulina e a hiperosmolaridade contribuem para a hipercalemia (DIBARTOLA, 2001).

A maioria dos pacientes com hipercalemia desenvolvem bradicardia, porém raramente taquicardia pode se desenvolver (SMITH; SCHROPE; SAMMARCO, 2008). As alterações eletrocardiográficas incluem aumento da amplitude e estreitamento ou “formato de tenda” das ondas T quando a hipercalemia é branda, porém essas alterações são inconsistentes em cães e gatos; encurtamento do intervalo QT também pode ser visto e essas alterações refletem a repolarização anormalmente rápida. Em casos de hipercalemia moderada, o intervalo PR pode apresentar-se prolongado e também pode ocorrer o alargamento do complexo QRS, em virtude da lenta condução através do sistema atrioventricular. Se esse desequilíbrio progredir, a condução é prejudicada e nota-se redução na amplitude e alargamento da onda P. Quando a hipercalemia é grave, a condução atrial cessa, ondas P desaparecem e nota-se bradicardia acentuada com ritmo sinoventricular. Em casos muito extremos, o complexo QRS pode se fundir com a onda T, originando uma onda com aparência de sino e em seguida ocorre

assistolia ou fibrilação ventriculares (COULTER; DUNCAN; SANDER, 1975; SLOVIS; JENKINS, 2005; DIBARTOLA; MORAIS, 2007; LANGSTON, 2008). As principais alterações podem ser observadas na Figura 2.



**Figura 2** – Principais alterações do eletrocardiograma na hipercalemia (SLOVIS; JENKINS, 2005)

O eletrocardiograma é uma ferramenta útil para levantar suspeitas sobre a existência de um distúrbio eletrolítico, principalmente a hipercalemia. Porém, apesar de uma parte dos pacientes apresentarem alterações no ECG, este teste tem uma sensibilidade e especificidade muito baixas (MONTAGUE; OUELLETTE; BULLER, 2008; SMITH; SCHROPE; SAMMARCO, 2008). Sua baixa sensibilidade pode ser atribuída ao fato que diversos eletrólitos influenciam o eletrocardiograma; ocorre também a influência do equilíbrio ácido-básico do paciente no resultado desse exame (SMITH; SCHROPE; SAMMARCO, 2008), já que a acidose está associada à transferência de íons potássio do fluido intra-celular para o fluido extra-celular, enquanto a alcalose estimula o inverso (DIBARTOLA; MORAIS, 2007).

## 2.3 Síndrome cardiorenal

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

A síndrome cardiorenal (SCR) é um transtorno fisiopatológico em que uma disfunção aguda ou crônica do coração pode induzir disfunção aguda ou crônica no rim ou vice e versa, ou seja, uma alteração no funcionamento renal, pode alterar as funções cardíacas (RONCO; HOUSE; HAAPIO, 2008). Essa relação existe independentemente de ter ocorrido, inicialmente, doença cardíaca ou doença do parênquima renal (SCHRIER, 2007). O órgão que está afetado pode iniciar e perpetuar o distúrbio dos dois órgãos através de uma combinação complexa de mecanismos de retroalimentação neuro-hormonais, seja de forma direta ou indireta (RONCO et al., 2008).

Ronco e colaboradores (2008) propuseram a subdivisão da síndrome cardiorenal em cinco subtipos, com uma abordagem mais concisa e lógica de cada situação, descritas no Quadro 4.

### Quadro 4 - Subtipos da Síndrome Cardiorenal

TIPO	CARACTERÍSTICAS
1- Síndrome cardiorenal aguda	Disfunção cardíaca abrupta levando à lesão renal aguda
2- Síndrome cardiorenal crônica	Doenças cardíacas de curso crônico que causam doença renal crônica progressiva
3- Síndrome renocárdica aguda	Disfunção renal abrupta que causa lesão cardíaca aguda
4- Síndrome renocárdica crônica	Doença renal crônica, com consequente diminuição da função cardíaca
5- Síndrome cardiorenal secundária	Lesões sistêmicas que levam à disfunção concomitante do rim e do coração

Fonte: RONCO et al., 2008

O tipo 1 é o mais comum (RONCO et al., 2008). Pacientes com falência cardíaca geralmente apresentam insuficiência renal, com prognóstico extremamente ruim (HEYWOOD, 2004).

A produção do filtrado glomerular pelos rins depende de adequada perfusão renal e do tônus das arteríolas aferentes e eferentes. A resistência arteriolar está sob controle miogênico intrínseco e responde a diversos sistemas neuro-hormonais. A mácula densa e o aparato justaglomerular são sensíveis à diminuição da perfusão glomerular e ativam o Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA), produção de óxido nítrico, adenosina e prostaglandina para manter a taxa de filtração glomerular e prevenir alterações dramáticas na função renal (VISWANATHAN; GILBERT, 2011). As causas da insuficiência renal associadas à insuficiência cardíaca são diversas e, em vários casos, a diminuição da perfusão renal leva à insuficiência do órgão (HEYWOOD, 2004; RONCO et al., 2008). Esse inadequado suprimento sanguíneo pode ser secundário à hipovolemia (diminuição pré-carga), por vasoconstrição mediada por neuro-hormônios (aumento da pós carga), hipotensão com débito cardíaco preservado (choque vasodilatador) ou síndrome com baixo débito (HEYWOOD, 2004). Quando essa pressão na perfusão é diminuída, a ativação do SRAA leva à produção angiotensina II e conseqüentemente há elevação da resistência da artéria eferente para preservar a pressão hidrostática intraglomerular e manter a taxa de filtração glomerular. Simultaneamente, a artéria eferente, sob controle do mecanismo de retroalimentação túbulo-glomerular e prostaglandinas, dilata para aumentar a pressão de perfusão no glomérulo (VISWANATHAN; GILBERT, 2011).

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

Mecanismos iatrogênicos também podem agravar o quadro pelo uso de alguns medicamentos para tratamento da insuficiência cardíaca. A administração crônica de diuréticos de alça resulta na diminuição da natriurese (fenômeno “braking”) devido a

adaptações funcionais e estruturais que ocorrem em segmentos dos néfrons (BRUYNE, 2003), levando à diminuição da resposta diurética (RONCO et al., 2008). Outras drogas podem ser citadas, como anti-inflamatórios não esteroidais, ciclosporina, inibidores de ECA e bloqueadores de receptores de angiotensina, que levam à lesão vascular renal e diminuição da taxa de filtração glomerular (HEYWOOD, 2004).

O tipo 2 ocorre em casos de insuficiência cardíaca crônica, que pode ser caracterizada por uma condição de diminuição da perfusão renal por tempo prolongado, muitas vezes predisposto por doença micro e macrovascular (RONCO et al., 2008). Essa condição não é somente caracterizada pela diminuição do débito cardíaco e subsequente diminuição na perfusão sanguínea para os demais órgãos, mas também com aumento da congestão venosa (DAMMAN et al., 2007). Em pacientes com insuficiência cardíaca crônica, a função renal está fortemente e de forma independente associada com o prognóstico (HILLEGE et al., 2006). A falta de correlação entre os parâmetros hemodinâmicos e função renal sugere que a hipoperfusão pode contribuir para, mas não é a principal causa de disfunção renal em pacientes com insuficiência cardíaca avançada (NOHRIA et al., 2008); a intensa congestão venosa em pacientes com disfunção cardíaca também está associada com prejuízo da função renal (DAMMAN et al., 2007), sinais e sintomas de congestão incluindo aumento da pressão venosa da jugular, ascite, edema periférico e ortopneia são frequentemente encontrados em pacientes com insuficiência cardíaca crônica e associados com diminuição da função renal. Além disso, quanto mais marcada a congestão, maior a extensão do prejuízo renal (DAMMAN et al., 2010). Alterações neuro-hormonais estão presentes devido à excessiva produção de mediadores vasoconstritores (epinefrina, angiotensina, endotelina) e alteração da sensibilidade e/ou liberação de fatores vasodilatadores endógenos (peptídeo natriurético, óxido nítrico) (RONCO et al., 2008). A estimulação simpática excessiva ativa o sistema renina-angiotensina-aldosterona e outros neuro-hormônios, levando a um aumento do tônus venoso e arterial (e maior pré-carga e pós-carga, respectivamente), das concentrações plasmáticas de noradrenalina, retenção progressiva de sal e água, apoptose dos miócitos cardíacos, hipertrofia, e necrose miocárdica focal (JACKSON et al., 2000).

O tipo 3 é menos comum que o tipo 1 e acredita-se que, diferentemente da SCR tipo 1, a tipo 3 não tem sido sistematicamente estudada (RONCO et al., 2008). A insuficiência renal aguda foi diagnosticada em aproximadamente 36,1% de mais de 120.000 pacientes do centro de tratamento intensivo em estudo realizado na Austrália; esses pacientes eram geralmente mais idosos, mulheres e apresentavam doenças concomitantes. O diagnóstico primário era

comumente de doença cardíaca, hepática ou sepse. Uma relação entre severidade da lesão renal e mortalidade também foi estabelecida, quanto mais grave o quadro, maior chance de morte (BAGSHAW et al., 2007). A lesão renal aguda pode afetar o coração por diversas vias cuja hierarquia não está bem estabelecida (RONCO et al., 2008). A compreensão dos mecanismos fisiopatológicos em que a lesão renal aguda contribui para a lesão aguda do miocárdio é limitada; uma disfunção aguda da função renal tem efeitos que, dependentes da severidade e do tempo de duração da lesão, podem de forma direta ou indireta predispor a um evento cardíaco agudo (BAGSHAW et al., 2013).

As alterações na homeostase ácido-básica, de fluido e eletrolítica, podem levar a alterações no ritmo cardíaco; hipercalemia, hipermagnesemia e hipercalcemia causam distúrbios no eletrocardiograma (BAGSHAW et al., 2013). O acúmulo de líquido que ocorre em pacientes com injúria renal aguda tem associação com mortalidade entre estes, e a magnitude, progressão, duração e reversibilidade desse acúmulo também desempenham papel importante; também está associado com menos probabilidade de recuperação renal (BOUCHARD et al., 2009). Essa alteração pode contribuir para a formação do edema pulmonar (RONCO et al., 2008) e levar a alterações do miocárdio, como taquiarritmia ventricular (IP et al., 2011), fibrose intersticial (DAVIS et al., 2000; DESAI et al., 2008) e alterações no ventrículo esquerdo (DESAI et al., 2008). Essa sobrecarga de volume contribui para elevada pré-carga, alterações no débito cardíaco e aumento da pós-carga, ativação do sistema nervoso simpático (SNS) e SRAA e esses mecanismos podem contribuir para o desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica e pulmonar (BAGSHAW et al., 2013).

As citocinas podem afetar a função do miocárdio tanto através de alterações na contratilidade, como na matriz extracelular (PRABHU, 2004). Diversas citocinas são consideradas substâncias depressoras do miocárdio, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucinas (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-2) e interferon- $\gamma$  (IFN- $\alpha$ ) (BAGSHAW et al., 2013). Após lesão renal aguda, há aumento nos níveis séricos de TNF- $\alpha$  e IL-1 (KELLY et al., 1996); aumento da atividade da mieloperoxidase (importante indicativo de infiltrado inflamatório) no coração e alterações funcionais também foram notadas, como dilatação ventricular esquerda e apoptose de cardiomiócitos (KELLY, 2003). A secreção de TNF- $\alpha$  por células musculares cardíacas foi suficiente para causar miocardite, disfunção do miocárdio e falência cardíaca em estudo experimental em ratos, porém os danos ao miocárdio também podem ser atribuídos às células inflamatórias que foram recrutadas por esse fator, ou ainda pela expressão de outras citocinas (BRYANT et al., 1998). Assim como citocinas pró-inflamatórias, a oxidação de

proteínas plasmáticas é consideravelmente maior em pacientes com insuficiência renal aguda, o que define um quadro de estresse oxidativo (HIMMELFARB et al., 2004). Esse quadro promove disfunção endotelial e aterosclerose, portanto complicações cardiovasculares, e essa condição deve ser considerada causa potencialmente importante de morbidade e mortalidade nos pacientes (LOCATELLI et al., 2003).

A acidose metabólica é uma complicação comum da insuficiência renal aguda (BAGSHAW et al., 2013) e leva à diminuição da contratilidade cardíaca, provavelmente pela diminuição da sensibilidade dos miofilamentos ao  $\text{Ca}^{+2}$  nessa condição (NIMMO et al., 1993).

Os rins em falência podem ativar o SNS através do estímulo de nervos sensitivos aferentes (CONVERSE et al., 1992) e as catecolaminas liberadas, como a norepinefrina, podem afetar os cardiomiócitos (SINGH et al., 2001). Com essa ativação, também pode ocorrer vasoconstrição, que pode levar à isquemia quando a oxigenação é restrita, e ativação exacerbada do SRAA. Essa ativação contribui para produção de angiotensina II (Ang II), vasoconstrição e perda da homeostase do líquido extracelular (BAGSHAW et al., 2013). A Ang II pode causar diretamente doenças cardiovasculares e renais, independente de seu efeito de elevação da pressão arterial (KIM; IWAO, 2011). Ela tem diversos efeitos no sistema cardiovascular, pode ativar múltiplas cascatas de sinalização intracelular (KIM; IWAO, 2011), induzir à apoptose em miócitos dos ventrículos (KAJSTURA et al., 1997), hipertrofia cardíaca (KIM; IWAO, 2011) e fibrose (KAWANO et al., 2000).

Na lesão renal aguda, a função vascular é prejudicada, ocorre diminuição da condutância e da reserva vascular coronariana; a sensibilidade a compostos vasodilatadores também está diminuída. Com isso, há uma capacidade limitada para suprir o aumento da demanda de oxigênio, o que induz à isquemia subendocárdica, com maior risco de eventos coronarianos adversos e mortalidade (KELLY, 2003).

Os produtos da uremia são deletérios para o coração e podem diminuir a contratilidade do miocárdio (SCHEUER; STEZOSKI, 1973). Em estudo com autópsia de 27 pacientes humanos, com diagnóstico clínico de uremia, foram avaliados dados clínicos, alterações macro e microscópicas e no eletrocardiograma. As alterações incluem processo hipertrófico em variados graus e áreas pálidas, infartos antigos e recentes observados, mais frequentemente no ventrículo esquerdo, arteriolonecrose no rim, pericardite fibrinosa (por vezes com extensão do processo inflamatório para o miocárdio), moderada a severa fibrose intersticial (em alguns casos a fibrose perivascular era marcada), degeneração gordurosa, hiperplasia endotelial de pequenas artérias e arteriosclerose na coronária. A hipertrofia foi atribuída à hipertensão

arterial e à fibrose intersticial pelo processo arterioesclerótico. Evidência de hiperpotassemia foi observada em seis pacientes, e intoxicação por potássio parece ser a causa imediata de morte, ao menos em um quinto dos casos de uremia em humanos (LANGENDORF; PIRANI, 1947).

Na SCR tipo 4 os pacientes tem DRC, e sabe-se que neste grupo o risco de ocorrência da doença cardiovascular é maior; a insuficiência cardíaca congestiva é mais comum dentre os pacientes com DRC do que na população em geral. O maior risco de desenvolver doenças cardiovasculares pode ser causado, em parte, devido às alterações hemodinâmicas e metabólicas que ocorrem na doença renal crônica, incluindo proteinúria, aumento de volume do fluido extracelular, desequilíbrio eletrolítico e anemia (LEVEY et al., 1998). Outros fatores de risco como hiperatividade do sistema simpático, esteroides cardiotônicos (PATEINAKIS; PAPAGIANNI, 2011), hiperativação do SRAA, hiper-homocisteinemia, dislipidemia, estresse oxidativo, disfunção endotelial, inflamação crônica e calcificação vascular (MCCULLOUGH, 2003; YERKEY et al., 2004; MCCULLOUGH, 2007) também estão relacionados, levando a alterações histomorfológicas do coração e dos vasos (PATEINAKIS; PAPAGIANNI, 2011). Diversos fatores de risco associados com a doença cardiovascular aterosclerótica são mais prevalentes em pacientes com doença renal em estágio terminal e, dentre eles, a hipertensão é o fator de risco mais importante (LONGENECKER et al., 2002).

Na insuficiência renal, há aumento da pré-carga devido à hipervolemia, assim como aumento da pós-carga secundário ao aumento da resistência vascular periférica; essas alterações levam a hipertrofia ventricular acompanhadas de fibrose intersticial (AMANN et al., 1998). Em pacientes que realizavam diálise pela doença renal em estado terminal, foi relatada uma correlação entre anemia e hipertrofia ventricular esquerda, sugerindo que a anemia faça parte da patogênese dessa lesão nesse grupo de pacientes (SILBERBERG et al., 1989).

O aumento da atividade simpática agrava a hipertensão e leva à hipertrofia cardíaca. Ambos os eventos podem explicar, pelo menos em parte, a alta taxa de mortalidade cardiovascular de pacientes com IRC, análogo ao efeito deletério do tônus simpático alta após infarto do miocárdio (RUMP et al., 2000).

Moléculas esteróides, que se ligam à enzima Na/K-ATPase e apresentam similaridade estrutural aos fármacos digitálicos, se acumulam em pacientes com insuficiência renal e levam à alterações cardíacas funcionais e morfológicas, fibrose e também estresse oxidativo. Essas

moléculas são atualmente conhecidas como esteróides cardiotônicos (KENNEDY et al., 2006).

A homocisteína é derivada da metionina proveniente da dieta e é um metabólico intermediário na via biossintética, que converte a metionina em cisteína (BYDLOWSKI; MAGNANELLI; CHAMONE, 1998) e esta substância é excretada pela urina (GULDENER, 2006). Pacientes com doença renal crônica apresentam elevados níveis de homocisteína no plasma (GULDENER, 2006). Esse quadro de hiper-homocisteinemia leva a lesões marcadas em vasos sanguíneos (MCCULLY, 1969). Placas arterioscleróticas foram encontradas na aorta e em outras artérias de coelhos que receberam homocisteína experimentalmente (MCCULLY; WILSON, 1975). Há associação entre hiper-homocisteinemia e morte devido a alterações cardiovasculares e eventos aterotrombóticos em pacientes que fazem hemodiálise (MALLAMACI et al., 2002). É interessante notar o risco aumentado de doença vascular nesses pacientes e especular se a hiper-homocisteína pode exercer um papel na doença vascular associada à insuficiência renal, porém os mecanismos pelos quais a homocisteína favorece o processo de aterosclerose e trombose não são conhecidos (BYDLOWSKI; MAGNANELLI; CHAMONE, 1998).

O hiperparatireoidismo secundário é uma complicação comum em pacientes com doença renal crônica e é caracterizada por hiperplasia das glândulas paratireoides e aumento da síntese e secreção de PTH. A hipocalcemia, hiperfosfatemia e deficiência de vitamina D estimulam ainda mais a hiperplasia da paratireoide e a síntese de PTH nestes pacientes (SLATOPOLSKY; BROWN; DUSSO, 2001).

A síndrome cardiorenal secundária, ou tipo 5, é caracterizada pela presença de disfunções renal e cardíaca secundárias à uma patologia sistêmica, crônica ou aguda. Várias doenças podem afetar ambos os órgãos simultaneamente, e a lesão de um órgão em um pode afetar a outra e vice-versa. Exemplos incluem sepse, diabetes, amiloidose, lúpus eritematoso sistêmico e sarcoidose. Várias condições crônicas, como diabetes e hipertensão podem contribuir para tipo 2 e 4 SCR. Dentre as patologias agudas, a sepse representa a causa mais comum e grave (RONCO et al., 2008).

## 2.4 Marcadores celulares e plasmáticos utilizados na detecção imunohistoquímica de lesão cardíaca

Os biomarcadores cardíacos são componentes estruturais das células que são liberados na circulação quando o miocárdio sofre algum tipo de injúria. Eles têm um papel fundamental no diagnóstico, avaliação de risco e tratamento de pacientes com alguma alteração cardíaca (SINGH et al., 2010).

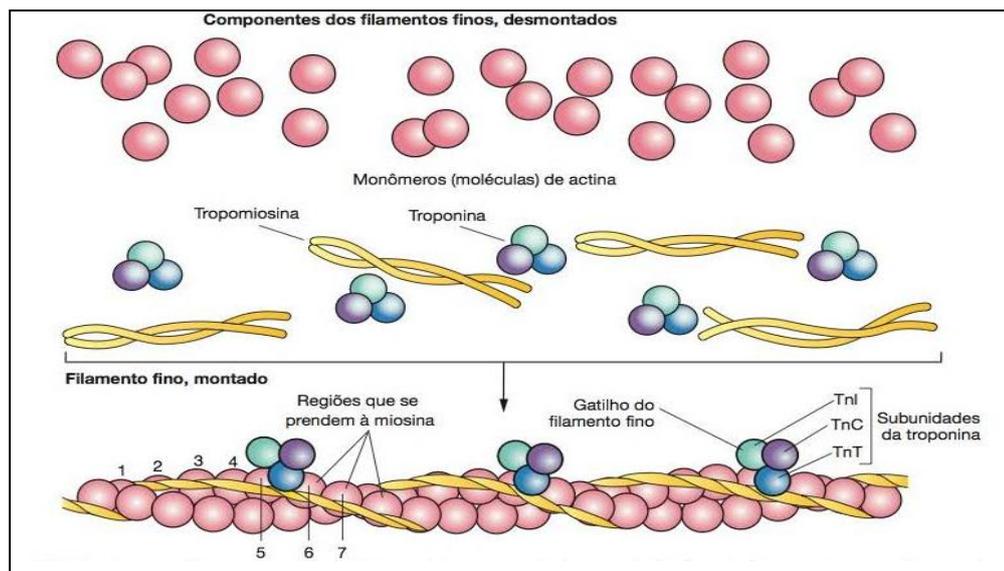
Dentre os principais marcadores de lesão ao miocárdio podemos citar como plasmáticos: C5b-9 (ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a; CAMPOBASSO et al., 2008), C4d (CHANTRANUWAT et al., 2004; JENKINS et al., 2010), C9 (DORAN et al., 1996; OFFERMAN et al., 2000; SILVA; MARTIN; ROSSI, 2002; JENKINS et al., 2010) e fibronectina (HU; CHEN; ZHU, 1996; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a; ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000b; SILVA et al., 2002; CAMPOBASSO et al., 2008) e como marcadores celulares: mioglobina (ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a; ORTMANN, PFEIFFER; BRINKMANN, 2000b; SILVA; MARTIN; ROSSI, 2002; CAMPOBASSO et al., 2008), troponina I (FISHBEIN et al., 2003; CAMPOBASSO et al., 2008), troponina T (ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a; SILVA; MARTIN; ROSSI, 2002; FISHBEIN et al., 2003; JENKINS et al., 2010) e troponina C (ORTMANN; PFEIFFER; BRINKMANN, 2000a; PAVARINI et al., 2012; COSTA et al., 2014; SANTOS et al., 2014).

**A proteína C-reativa (CRP)** é uma proteína encontrada elevada no soro ou plasma durante um processo inflamatório. É um marcador sensível para inflamação aguda e crônica e infecção, e em ambos os casos, essa proteína se encontra muito aumentada (SINGH et al., 2010). A inflamação tem importante papel na aterosclerose, desde o início até a progressão dessa patologia e também está envolvida nas complicações trombóticas da mesma. Infarto agudo do miocárdio pode ser causado por um trombo na artéria coronária oriundo do rompimento de uma placa aterosclerótica (LIBBY; RIDKER; MASERI; 2002). Lagrand e colaboradores (1997) sugeriram que a proteína C-reativa poderia ativar o sistema complemento em humanos com infarto agudo do miocárdio. C4d e C5b-9 são alguns dos produtos desta ativação do complemento (YASOJIMA; SCHWAB; MCGEER, 1998). A proteína C-reativa foi mensurada em pacientes com síndrome coronária aguda e os resultados demonstram que há uma forte relação entre o aumento dessa proteína com maior mortalidade e falência cardíaca (SCIRICA et al., 2007).

Além de dar início à fagocitose, o sistema complemento exerce uma atividade lítica direta através do fator C9 (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2014), que é parte do complexo de ataque à membrana (YASOJIMA; SCHWAB; MCGEER, 1998), formando poros transmembrana, que conduzirão a célula alvo à lise osmótica (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2014).

Como em muitos casos o infarto agudo do miocárdio ocorre de maneira muito precoce, avaliar os danos aos cardiomiócitos apenas com a coloração rotineira pela H.E. pode se tornar uma tarefa difícil para os patologistas. Desta maneira, muitos trabalhos sugerem a utilização dos fatores do sistema complemento, assim como os marcadores celulares para a identificação de necrose celular nos casos em que a morte do paciente ocorreu antes da infiltração inflamatória no local da lesão.

**Troponinas** são proteínas presentes na musculatura esquelética e cardíaca com 3 subunidades, troponina I (TnI), troponina C (TnC) e troponina T (TnT), que formam um complexo que regula a interação cálcio-dependente da miosina com a actina (Figura 3). A troponina T se liga a um complexo de três proteínas com a tropomiosina, a troponina I inibe o engate da actina com a miosina e a troponina C se liga ao cálcio induzindo a uma mudança e invertendo a atividade inibitória da troponina I (ADAMS; ABENDSCHEIN; JAFFE, 1993). A troponina, assim como a tropomiosina está envolvida na contratilidade como proteína moduladora, pois quem realmente exerce atividade contrátil são a actina e a miosina (VASALLO; OLIVEIRA; STEFANON, 2008). As troponinas cardíacas (T, I e C) têm sido utilizadas como marcadores de injúria ao miocárdio. Elas estão presente nos miócitos viáveis, ou seja, nos não necróticos (JENKINS et al., 2010). A troponina C não tem relevância na prática clínica pois a musculatura esquelética partilha essa isoforma com a musculatura lisa (MARTINS, 2009). Troponinas cardíacas (I ou T) vem apresentando excelentes resultados como marcadores plasmáticos de injúria no miocárdio (KATUS et al., 1991; GERHARDT; NORDIN; LJUNGDAHL, 1999; JAFFE et al., 2000).



**Figura 3** – Desenho esquemático mostrando as três principais proteínas (actina, tropomiosina e troponina) dos filamentos finos e a estrutura desses filamentos – Acima, as três proteínas isoladas e, abaixo, depois de polimerizadas. As moléculas (monômeros) de actina são polarizadas e polimerizam em uma direção certa. Observe que cada molécula de tropomiosina ocupa o sulco que corresponde a sete moléculas de actina. Para cada molécula de tropomiosina, existe uma de troponina composta de três polipeptídeos globosos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

A **fibronectina** é uma glicoproteína presente no plasma e na matriz extracelular que tende a se acumular em células cardíacas lesionadas. Durante a isquemia, ela extravasa dos capilares e da matriz extracelular para dentro dos miócitos lesionados. Experimentalmente observou-se que, 30 a 60 minutos após oclusão coronária, já havia reação positiva para fibronectina (HU; CHEN; ZHU, 1996), que não é afetada pela autólise (CAMPOBASSO et al., 2008).

A **mioglobina** é uma proteína presente tanto no músculo cardíaco como esquelético e está localizada no citoplasma. Ela é rapidamente liberada das células lesionadas e seus níveis no sangue aumentam antes dos marcadores enzimáticos e esse aumento rápido se dá pelo menor tamanho molecular comparado as enzimas cardíacas (BHAYANA; HENDERSON, 1995). Desta maneira caso ocorra algum dano muscular ou, mesmo, insuficiência renal crônica, os níveis de mioglobina no soro podem estar aumentados. Contudo, devido à sua inespecificidade cardíaca, o diagnóstico diferencial torna-se um problema (KENT, 1982), pois também pode indicar um dano no músculo esquelético (CARRETÓN et al., 2012).

### 2.4.1 Troponina

A troponina cardíaca é liberada para a corrente sanguínea após lesão reversível ou irreversível (MARTINS, 2009). Por volta de 4 a 6 horas após lesão ou necrose aguda do miocárdio há um aumento das concentrações séricas de troponina cardíaca I (cTnI) e troponina cardíaca T (cTnT) (WARE, 2009; JENKINS et al., 2010). Nessas primeiras horas há uma pequena liberação da troponina no sangue, que provém do reservatório citosólico; o pico ocorre por volta de 48-72 horas no caso de infarto do miocárdio e corresponde à troponina do reservatório estrutural devido à destruição das miofibrilas (MARTINS, 2009).

Em pacientes hospitalizados, geralmente observa-se elevação dos níveis séricos de cTnI e, na maioria das vezes, o diagnóstico feito é de síndrome coronariana aguda (SCA), infarto agudo do miocárdio (IAM) ou angina instável (HIGGINS; HIGGINS, 2003). Em casos de isquemia do miocárdio, sem infarto, há um aumento e diminuição rápidos da concentração de troponina plasmática (MARTINS, 2009). Níveis séricos de troponina I podem estar elevadas em outras doenças cardíacas além da síndrome coronariana aguda, assim como em doenças não cardíacas (KHAN et al., 1999). Os níveis de cTnT, cTnI e isoenzima MB da creatina quinase (CK-MB) não são detectáveis no plasma da maioria dos cães normais (SCHOBER; KIRBACH; OECHTERING, 1999). Em um estudo realizado com quarenta e um cães e vinte e um gatos clinicamente normais apresentaram uma faixa de cTnI sérica < 0,03-0,07 ng/ml para cães e < 0,03 – 0,16 ng/ml para gatos (SLEEPER; CLIFFORD; LASTER, 2001). A cTnT, assim como a creatina quinase, podem estar aumentadas em pacientes com lesões musculares, sem evidências de lesões cardíacas, porém a troponina I não aumenta nesses casos, o que a torna um marcador de alta especificidade cardíaca nos casos de lesões miocárdicas através de análise sérica (BODOR et al., 1997; AGGARWAL et al., 2009). Isso ocorre porque troponina I cardíaca apresenta uma extensão N' terminal (32 resíduos), que não está presente nas isoformas das troponinas da musculatura esquelética (SADAYAPPAN et al., 2008).

Embora o infarto seja uma rara causa de necrose no miocárdio no cão e no gato, altas concentrações de cTnI têm sido associadas com muitas outras doenças cardíacas que são clinicamente relevantes nestas espécies (SLEEPER; CLIFFORD; LASTER, 2001), como em cães com lesão no miocárdio secundária a trauma torácico, que apresentaram aumento das concentrações séricas de cTnI (SCHOBER; KIRBACH; OECHTERING, 1999; DINIZ; SCHWARTZ; COLLICCHIO-ZUANAZE, 2007). Este se mostrou um parâmetro mais

sensível do que a avaliação de cTnT, CK-MB ou análise eletrocardiográfica (SCHOBER; KIRBACH; OECHTERING, 1999). Cães com lesão cardíaca secundária à dirofilariose, apresentaram aumento sérico da cTnI (CARRETÓN et al., 2012); cães infectados com *Ehrlichia canis* apresentaram elevados níveis de cTnI (DINIZ et al., 2008); aumento de cTnI também foi encontrado em caninos com anemia severa secundária à hemoparasitose por *Ehrlichia canis* e *Babesia canis* (CHAMPION et al., 2013). Observaram-se, ainda, elevados níveis de cTnI associado com a Síndrome Sistêmica de Resposta Inflamatória em cadelas com piometra (HAGMAN et al., 2007). Gatos com grau moderado a severo de cardiomiopatia hipertrófica apresentaram níveis de cTnI sérica maiores do que gatos saudáveis (HERNDON et al., 2002). Equino com defeito no septo interventricular abaixo da raiz da aorta diagnosticado através da USG, apresentou concentrações séricas de cTnI maiores do que níveis mensurados em animais sem alterações clínicas e, após a eutanásia, verificou-se ruptura no septo interventricular (CORNELISSE et al., 2000). Bovinos jovens com febre aftosa apresentaram elevação da cTnI sérica (TUNCA et al., 2008). Podemos discriminar outras causas de troponinemia, que ocorrem na ausência de síndromes coronarianas (Quadro 5)

#### Quadro 5 - Causas de troponinemia

	Doenças	Refêrências
Dano direto ao miocárdio	Miocardites	SMITH et al., 1997; JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006; LAZZERI et al., 2008.
	Pericardites	BRANDT; FILZMAIER; HANRATH, 2001; JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006; LAZZERI et al., 2008.
Diminuição do fornecimento de oxigênio para o miocárdio	Choque ou anemia	JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006; LAZZERI et al., 2008; MARTINS et al., 2009.
Maior demanda de oxigênio do miocárdio	Taquicardia	ZELLWEGER et al., 2003; JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006; LAZZERI et al., 2008; MARTINS et al., 2009;.
	Hipertrofia ventricular esquerda	SICILIANO et al., 2000; JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006; LAZZERI et al., 2008.
Insuficiência cardíaca crônica		LA VECCHIA et al., 1997; JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006; LAZZERI et al., 2008;
Doença valvular	Estenose ou regurgitação (particularmente da valva aórtica)	NUNES et al., 2003; JEREMIAS; GIBSON, 2005; LAZZERI et al., 2008; MARTINS et al., 2009.

Causas não associadas diretamente com o miocárdio	Embolia pulmonar	KHAN et al., 1999; MEHTA, JANI, KANH, 2003; JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006; LAZZERI et al., 2008.
	Doença pulmonar obstrutiva crônica	BAILLARD et al., 2003; HARVEY; HANCOX, 2004; JEREMIAS, GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006;
	Excesso de estímulo simpático	JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006.
	Excesso de exercício	NEUMAYR et al., 2001; JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006;.
	Choque séptico	KHAN et al, 1999; AMMANN et al., 2001; JEREMIAS; GIBSON, 2005; MAHAJAN et al., 2006; LAZZERI et al., 2008;
	Doença Renal	MAHAJAN et al., 2006; DIERKES et al., 2000; FREDA et al., 2002; JEREMIAS; GIBSON, 2005; ZOYSA, 2004; SHARKEY et al., 2009; KHAN et al., 1999.

Existem diversas hipóteses para tentar elucidar o mecanismo pela qual há o aumento de troponinas cardíacas em pacientes renais crônicos. Na musculatura esquelética de fetos humanos foram detectadas isoformas cTnT, ao passo que na musculatura esquelética de um adulto essas isoformas estão ausentes (ANDERSON et al., 1991). Em estudo realizado por Bodor e colaboradores (1997), foram avaliados fragmentos da musculatura de pacientes que apresentavam polimiosite e distrofia muscular Duchenne. Esses fragmentos apresentaram marcação IHQ positiva para cTnT, que foi comparada a marcação IHQ semelhante a musculatura fetal, indicando possível reexpressão desse gene fetal na musculatura cardíaca. Essa hipótese também foi descrita por Saggin e colaboradores (1990), em que a cTnT foi encontrada na musculatura que encontrava-se em processo regenerativo e musculatura desnervada na musculatura esquelética. Pacientes com doença renal crônica apresentam alterações estruturais degenerativas e regenerativas nas fibras musculares esqueléticas (DIESEL et al., 1993). Essa miopatia ocorre em pacientes urêmicos como consequência dos níveis elevados de cálcio, azotemia, acidose, desnutrição, anemia, baixo nível de carnitina e hiperparatireoidismo (MOREIRA; BARROS, 2000). Em resumo, encontra-se elevação dos níveis séricos de cTnT oriundo da musculatura esquelética em pacientes com insuficiência renal (MCLAURIN et al., 1997). Essa liberação de cTnT desses músculos alterados pode explicar os aumentos séricos de cTnT (BODOR et al., 1997), porém Apple e colaboradores (1998) afirmam que as isoformas cTnT expressas na musculatura esquelética de pacientes

com doença renal crônica se forem liberadas na circulação, não serão detectadas no sangue. A cTnI não foi observada na musculatura normal (BODOR et al., 1995), e não foi encontrada expressão de cTnI em musculatura esquelética lesionada (RICCHIUTI, APPLE, 1999; BODOR et al., 1995); dessa forma a cTnI seria um marcador de injúria cardíaca mais precisa em pacientes renais crônicos submetidos à diálise por muito tempo (MCLAURIN et al., 1997).

Há controvérsias quanto à eliminação da troponina do organismo, pois alguns pesquisadores afirmam que as moléculas de troponina T (tanto a forma livre como a ligada) são grandes, então é impossível que o rim seja responsável por sua excreção (FREDA et al., 2002), visto que a CK e suas isoformas apresentam tamanhos semelhantes e são inativadas pelo sistema linfático (CLARK et al., 1978). Já a mioglobina, que é uma molécula menor, é normalmente eliminada de forma rápida pelo catabolismo renal, já que a redução do fluxo diminui a depuração desta proteína (KLOCKE et al., 1982), então dessa forma seria pouco provável que a elevação da troponina cardíaca sérica seja resultado da diminuição da eliminação renal dessa molécula por uma insuficiência do mesmo (FREDA et al., 2002). Outros estudos apontam que a troponina T é fragmentada em moléculas pequenas o suficiente para sofrer excreção renal (DIRIS et al., 2004). Mesmo que o rim seja parcialmente responsável pela depuração da troponina, não explica o porquê esta molécula é liberada da miofibrila cardíaca (FREDA et al., 2002). Independente da causa, a elevada concentração sérica de troponina indica um prognóstico desfavorável, com maior risco de mortalidade, ao passo que um resultado negativo é um bom sinal (LAZZERI et al., 2008).

As doenças cardiovasculares ocorrem comumente associadas com insuficiência renal crônica e a prevalência dessas doenças é o dobro daquela em pacientes sem essa condição (69,8% versus 34,8%) (BETHESDA, 2014). Em doentes submetidos à diálise, que apresentam Infarto Agudo do Miocárdio (IAM), existem poucas chances de sobrevivência (HERZOG; MA; COLLINS, 1998). Muitas vezes a doença cardiovascular pode ser subclínica. Em cães com insuficiência renal sem evidências de lesão do sistema cardiovascular, observou-se aumento da concentração sérica de cTnI (SHARKEY et al., 2009), que pode ser resultado de pequenas áreas de necrose no miocárdio (FREDA et al., 2002; ZOYSA, 2004).

Em um estudo realizado com 258 pacientes em hemodiálise crônica sem sintomatologia de lesão coronária aguda, 35,8% pacientes apresentaram hipertrofia ventricular esquerda e elevados níveis de cTnT sérica (ILIOU et al., 2001); pacientes hipertensos com essa hipertrofia apresentaram elevação sérica de cTnI (SICILIANO et al., 2000).

Os níveis de CK no soro de pacientes com IAM aumentam horas após o aparecimento da dor, e o diagnóstico passa a depender de alterações eletrocardiográficas, que são inconclusivas em até 40% dos pacientes (GODOY; BRAILE; NETO, 1998).

A **troponina C** tem pouca especificidade para detecção de lesão cardíaca ao nível de ensaios bioquímicos, visto que essa estrutura presente na musculatura esquelética é muito similar com a da cardíaca (SCHREIER; KEDES; GAHLMANN, 1990). Devido à sua alta sensibilidade e especificidade para lesão miocárdica, a avaliação sérica de troponina se mostra um parâmetro valioso e firmemente estabelecido no manejo de pacientes com doenças cardíacas. Em Medicina Veterinária, as medições de troponina demonstraram ter o potencial para ser um indicador sensível de lesão do miocárdio devido a doenças cardíacas ou não (WELLS; SLEEPER 2008). As troponinas cardíacas são consideradas o padrão ouro para o diagnóstico de IAM, e com o desenvolvimento dos recentes métodos ultrasensíveis para mensuração dessas proteínas, pode-se detectar a lesão cardíaca dentro de duas horas, melhorando substancialmente o diagnóstico precoce do IAM, particularmente em pacientes com dor torácica recente (SILVA; MORESCO, 2011).

#### **2.4.1.1 Imunohistoquímica com anticorpo antitroponina**

Em Medicina Veterinária, são escassos os trabalhos que relatam o uso da imunohistoquímica com anticorpo antitroponina na detecção de lesões cardíacas.

Carretón e colaboradores (2012) avaliaram o coração de vinte e quatro **cães** que apresentaram resultado positivo para antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis*; treze desses com elevados níveis plasmáticos de troponina I e cinco com elevados níveis plasmáticos de mioglobina. Macroscopicamente, nenhum coração apresentou lesão, porém microscopicamente houve necrose focal no ventrículo direito e, em outras áreas, focos hipereosinofílicos e necróticos eram frequentemente observados e, ocasionalmente, inflamação neutrofílica. Na avaliação IHQ, houve perda não uniforme de mioglobina e cTnI nos cardiomiócitos necróticos, ou seja, algumas fibras demonstraram completa ausência desse componente e outras fibras apresentaram variados graus de perda. Não foi encontrada diminuição na marcação de mioglobina ou cTnI em 37,5% dos fragmentos cardíacos avaliados de cães com níveis detectáveis e/ou patológicos de mioglobina ou valores elevados de cTnI, porém isso foi atribuído ao fato de que somente um pequeno fragmento de miocárdio foi avaliado.

A especificidade de anticorpos utilizados para marcação de células musculares não foi extensamente caracterizada em tecidos caninos. Gofflot e colaboradores (2008) realizaram um estudo com um amplo painel de anticorpos que são validados para uso em tecidos humanos e testou sua reatividade em tecidos caninos. Foram avaliados musculatura cardíaca, estriada esquelética e musculatura lisa, assim como diversos marcadores para tecido muscular, entre eles troponina I e T. A especificidade da reatividade cruzada foi confirmada por análise através da técnica western blot. Tecidos com musculatura lisa não apresentaram imunoreatividade com anti-troponina T e I. Em células das musculaturas estriadas esquelética e cardíaca, houve um padrão citoplasmático de marcação pelo anticorpo anti-troponina I e, virtualmente, todas as células estriadas foram positivamente marcadas, com um padrão distintamente muito heterogêneo dentro de cada célula, tendendo a ser mais intensa em um dos pólos do citoplasma. Já com a anti-troponina T houve uma marcação citoplasmática moderada a intensa em ambas musculaturas estriadas, e uma pequena porção de células da musculatura estriada esquelética foram negativas, pois correspondiam a células de contração lenta e o anticorpo usado era específico para as de contração rápida; todas as células cardíacas apresentaram marcação positiva de forma intensa e homogênea.

Em um estudo com **bovinos** intoxicados naturalmente por *Amorimia exotropica*, todos os cardiomiócitos com características histológicas (discretas a severas) de morte celular, apresentaram diminuição ou ausência de marcação pelo anticorpo anti-troponina C (PAVARINI et al., 2012; BANDINELLI et al., 2014). Esse anticorpo também apresentou bons resultados em estudos com **ovinos** intoxicados por *Amaranthus spinosus*. As fibras cardíacas hipereosinofílicas ou necróticas exibiram diminuição ou perda da imunomarcação (COSTA et al., 2014). De forma semelhante, **Ovinos e bovinos** intoxicados por monofluoroacetato apresentaram redução na expressão para o anticorpo anti-troponina C em fragmentos cardíacos. Em três bovinos a coloração pela hematoxilina e eosina demonstrou apenas hipereosinofilia de cardiomiócitos e a imunohistoquímica revelou perda moderada de imunomarcação (SANTOS et al., 2014).

Um estudo realizado por Fishbein e colaboradores (2003) demonstrou que a cTnT humana apresentou resultados mais satisfatórios do que os da cTnI na avaliação IHQ de células cardíacas de **rato, cão e porco**. Nesse estudo, trinta e três animais sofreram oclusão permanente da coronária; vinte e cinco cães sofreram oclusão de 30 minutos a 6 horas, cinco porcos com oclusão de 4 horas e três ratos, um com oclusão de 1 hora e o outro de 2 horas. Na maioria dos casos houve diminuição de imunomarcação mais acentuada na periferia da lesão,

porém não ocorreu uniformidade na perda de troponina, pois algumas fibras demonstraram perda completa enquanto outras, graus variáveis e até mesmo ausência de cTnT. Quando comparada com a cTnI, a perda de cTnT foi maior e ocorreu precocemente. Em alguns animais, principalmente aqueles com oclusão de (30 a 45 minutos) e evidência ultraestrutural de lesão irreversível, a perda de marcação da troponina cardíaca pôde ser identificada mesmo na ausência de evidências histológicas de necrose (nesses casos só era observado edema e sutil aumento na eosinofilia); dezesseis animais sofreram oclusão de coronária com posterior reperfusão; dez cães que com oclusão de 45 minutos a 6 horas seguida por reperfusão de 15-30 minutos e 6 porcos com oclusão de 1 hora a 1 hora e meia. Todos os cães e porcos apresentaram evidência histológica de necrose no miocárdio e demonstraram, no mínimo, perda focal de troponina e, da mesma forma que os animais que sofreram oclusão permanente, houve perda mais marcada de troponina T. Contudo, nos casos em que houve a reperfusão, a diferença de marcação entre a periferia e o centro da lesão foi muito mais marcada; nesses casos, a perda de troponina na periferia foi muito maior do que no centro. Não houve ausência de imunoreatividade em casos de miocárdio viável tanto na H.E. como na microscopia eletrônica. Esses estudos indicam que a IHQ utilizando cTnC e cTnI pode ser mais sensível que a coloração rotineira pela H.E. para reconhecer lesão no miocárdio, além de demonstrar que anticorpos de troponinas cardíacas utilizados para humanos podem ser aplicados para estudos em animais.

Em um estudo realizado por Hansen e Rossen (1999) com quarenta e seis corações **humanos** provenientes de autópsias, a marcação IHQ da cTnI se mostrou um método de alta sensibilidade e estes foram divididos em grupos de acordo com os achados macroscópicos. Quatorze amostras apresentaram características macroscópicas bem definidas de infarto agudo do miocárdio, com lesões microscópicas características (miócitos hipereosinofílicos com picnose nuclear e inflamação por polimorfonucleares e na maioria dos casos ausência de estriações das células na área afetada) e apresentaram testes do nitroazul de tetrazólio positivo. O exame IHQ revelou uma área bem definida com redução significativa ou perda total da expressão da troponina I. Vinte e quatro amostras demonstraram possíveis indícios macroscópicos de infarto e achados incluíram aterosclerose de artérias coronárias de moderada a severa, hipertrofia do miocárdio de moderada a severa e fibrose focal do miocárdio; houve a subdivisão desses casos em dois grupos: dezessete apresentaram teste do nitroazul de tetrazólio positivo, e sete com o mesmo teste, negativo. Do grupo com dezessete amostras todos apresentaram área bem definida de redução significativa ou perda total da

troponina I na IHQ, porém apenas nove desses casos apresentaram lesões na H.E. compatíveis com infarto agudo (hipereosinofilia, picnose nuclear, polimorfonucleares, alguns casos com perda de estriação); no outro grupo com sete amostras, em seis destas houve a mesma alteração IHQ e na avaliação pela H.E. e, em um caso, houve redução difusa da expressão da troponina I e ausência de estriações nos miócitos em áreas que não havia redução da troponina, o que foi correlacionado com sinais de autólise observados na lâmina corada pela H.E.. Apenas dois casos apresentaram microscopia compatível com infarto agudo do miocárdio. As outras oito amostras não apresentaram evidências macroscópicas de infarto agudo e, assim como lesões na H.E., o teste do nitroazul de tetrazólio foi negativo; em seis destes não houve diminuição da expressão de troponina I na IHQ e, nos outros dois casos, houve a mesma redução difusa de marcação de troponina, também compatível com autólise observada na H.E. Como a redução da expressão de cTnI em casos de autólise ocorre de forma difusa com intensidade variável e não se apresenta em áreas bem definidas, além dos miócitos sem redução de troponina I apresentarem falta de estriação, em contraste com células sem alteração, esse “erro” de interpretação pode ser facilmente detectado (HANSEN; ROSSEN, 1999).

Ortmann e colaboradores (2000a) realizaram um estudo com avaliação de diversos marcadores imunohistoquímicos para lesão cardíaca em corações humanos provenientes de vinte e oito autópsias, e os achados indicaram uma alta sensibilidade dos antígenos celulares. A troponina T se mostrou menos eficiente que a troponina C, porém o anticorpo anti troponina T usado era específico para proteínas de musculatura de contração rápida.

A coloração pela H.E. não é suficiente para identificação de uma lesão isquêmica antes de 6 horas após o infarto (HANSEN; ROSSEN, 1999), então a IHQ utilizando as troponinas cardíacas I, C e T são testes mais sensíveis para identificação das alterações histopatológicas (HANSEN; ROSSEN, 1999; ORTMANN et al., 2000<sup>a</sup>; FISHBEIN et al., 2003; GOFFLOT et al., 2008; CARRETÓN et al., 2012; PAVARINI et al., 2012; BANDINELLI et al., 2014).

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Local**

O estudo foi realizado nos Laboratórios de Imunohistoquímica e Histopatologia do Setor de Anatomia Patológica do Anexo I do Instituto de Veterinária (antigo PSA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

### **3.2 Procedência dos animais / realização de necropsia e coleta de amostras de tecidos**

Foram utilizados fragmentos de coração e rins emblocados em parafina de vinte e dois cães, com diagnóstico prévio de Doença Renal Crônica. Destes, doze machos e onze fêmeas, de diferentes raças e idades entre onze meses e dezoito anos. O material foi obtido entre julho de 2013 e agosto de 2014.

Dez fragmentos foram provenientes de animais necropsiados no Setor de Patologia Veterinária da UFRRJ, sendo seis do Hospital Veterinário de Pequenos Animais (HVPA) desta instituição e quatro de clínicas particulares próximas à Universidade.

Os outros doze fragmentos foram oriundos de animais necropsiados no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal da Bahia (LPV-UFBA).

As necropsias foram realizadas imediatamente após a morte ou eutanásia do animal ou em até 3 dias e, nestes casos, o cadáver foi refrigerado em câmara fria à 4°C. Fragmentos de diversos órgãos foram coletados e fixados em formalina tamponada a 10% imediatamente após a coleta.

### **3.3 Critério para inclusão dos cães como nefropatas**

Diversas ferramentas foram utilizadas para classificar o cão como um paciente nefropata. Os dados de cada animal estão descritos no Quadro 6.

### **3.3.1 Avaliação clínica**

Sintomatologia clínica compatível com insuficiência renal, tais como hálito urêmico, poliúria, vômito com sangue, erosões, úlceras orais e/ou glossite ulcerativa foram dados obtidos de oito cães e utilizados para ratificar a nefropatia.

### **3.3.2 Ureia e creatinina**

Dezenove exames de patologia clínica foram realizados. Um foi realizado pelo LaboVet (método não obtido); cinco realizados pelo LQEPV-UFRRJ (método colorimétrico automático para creatinina e cinético UV automatizado para ureia); dois pelo Laboratório de análises clínicas do Km 32 (ambos pelo método bioplus); um pelo LABORLIFE (método cinético automatizado para creatinina e enzimático para ureia); dois pelo LAC-UFBA (método Jaffé para creatinina e enzimático para ureia); sete pelo CITVET2 (método enzimático automático para ambos) e um pelo LAPACLIVE (método Jaffé-modificado para creatinina e enzimático UV para ureia).

### **3.3.3 Exames complementares**

Exames ultrassonográficos foram realizados em três cães, entretanto não tivemos acesso às imagens ou metodologia utilizada, apenas ao laudo escrito.

A urinálise foi realizada de cinco animais, um pelo laboratório CELV (sem detalhamento de como a urina foi obtida), duas amostras analisadas pelo LAC-UFBA (urina obtida por cistocentese) e uma amostra pelo LAPACLIVE (urina obtida por sonda).

O hemograma foi realizado em nove cães, duas amostras analisadas pelo LQEPV-UFRRJ (método automatizado – poch 100 iV Diff-Sysmex- e microscopia ótica), duas pelo LAC-UFBA (utilizando o mesmo método do LQEPV-UFRRJ), uma pelo Laborlife (auto-analisador CELL-DYN 3500 com revisão microscópica), um pelo Laboratório de análises clínicas da veterinária do Km 32, um pelo CITVET2 e um pelo LAPACLIVE (esses três últimos sem metodologia especificada no laudo e um dos resultados não foi possível ter acesso ao laudo, somente ao resultado descrito na ficha clínica). Todos os dados obtidos foram utilizados para ratificar a insuficiência renal do canino em questão.

### **3.3.4 Alterações macroscópicas e microscópicas**

Em todos os caninos necropsiados, foram descritas as alterações macroscópicas e histológicas de forma detalhada. Essas alterações acrescidas de outros exames caracterizaram os animais como nefropatas. Em dois , o exame macro e microscópico foi utilizado exclusivamente para inclusão do canino como nefropata, pois não havia histórico prévio bem como outros exames complementares.

### **3.4 Dosagem de potássio**

A avaliação sérica de potássio foi realizada em nove animais. Quatro cães da UFRRJ (três amostras avaliadas no LQEPV-UFRRJ e uma no laboratório Genesi) e cinco da UFBA (quatro amostras avaliadas no CITVET2 e um no LAC-UFBA).

Nas análises realizadas pelo LQEPV, Genesi e CITVET2, o método utilizado foi eletrodo seletivo e o LAC-UFBA utilizou a metodologia do tetrafenilborato de sódio.

### **3.5 Histopatologia**

Após a fixação em formalina tamponada, os fragmentos foram desidratados em quatro banhos utilizando álcool etílico P.A.(dois minutos em cada), diafanizados em dois banhos de xilol (quinze minutos em cada), incluídos em parafina (aproximadamente 60°C) e cortados em micrótomo à espessura de 5 micrômetros. Os cortes foram corados pela Hematoxilina e Eosina e as lâminas examinadas em microscópio óptico.

### **3.6 Histoquímica**

Em fragmentos de coração de três cães (caninos 2, 4 e 5) foram realizados cortes em micrótomo à espessura de 5 micrômetro para realização da coloração pela Hematoxilina-Ácido Fosfotúngstica (H.A.F.T.) e em três fragmentos (caninos 2, 5 e 15) o mesmo procedimento foi utilizado para realização da coloração Tricrômico de Masson.

### 3.7 Imunohistoquímica

Secções histológicas do coração foram desparafinadas em dois banhos de xilol (20 minutos em cada), hidratadas em 4 banhos de álcool (5 minutos em cada), e incubadas por 15 minutos em peróxido de hidrogênio a 3% diluído na hora. Em seguida, permaneceram por mais 15 minutos na mesma solução porém diluída após o término dos primeiros 15 minutos para bloqueio de peroxidases endógenas. Após a lavagem das lâminas com água destilada, estas ficaram em banho maria com tampão citrato (pH 6,0) em temperatura aproximada de 98°C por 15 minutos para recuperação antigênica. O bloqueio de reações inespecíficas foi realizado com leite desnatado a 5 % (Molico® - Indústria Brasileira) por 30 minutos. Os cortes foram incubados “overnight” com o anticorpo anti-troponina C humana (Novocastra® - monoclonal) na diluição 1:100 (1µl de anticorpo para 100µl de PBS). Utilizou-se o sistema de detecção REVEAL polímero-HRP, livre de biotina (Spring) e como cromógeno a Diaminobenzidina (DAB).

Todas as seções foram contra-coradas com hematoxilina de Harris e avaliadas em microscópio ótico (Nikon – Eclipse E200) e fotografadas (Moticam 2500, 5.0 M pixel). Utilizaram-se como controles coração de cães com e sem lesão cardíaca. O cão com lesão apresentava uma área de infarto hemorrágico circundada por fibrose no coração (H 350/14) e em conjunto com outras alterações encontradas o diagnóstico sugestivo foi de processo imunomediado, mais provavelmente auto-imune; já o animal sem lesão não apresentou nenhuma alteração relacionada ao sistema cardiovascular (H 168/13). As lâminas com os respectivos cortes histológicos foram avaliadas de forma comparativa, ou seja, a lâmina com o corte corado pela H.E. foi analisada juntamente com a marcação imunohistoquímica para comparação do mesmo campo. Para uma maior precisão de análises, os cortes histológicos foram realizados de forma seriada.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Dados clínicos e análise laboratorial

A identificação dos animais e os respectivos dados clínicos estão descritos no Quadro 6. Em relação à análise bioquímica, parâmetros de creatinina e ureia avaliados encontraram-se acima dos valores de referência em 19 e 18 animais, respectivamente. A verificação dos níveis séricos de potássio foi realizada em 10 animais e 8 destes apresentaram hipercalcemia.

### 4.2 Avaliações macroscópicas, microscópicas, histoquímicas e imunohistoquímicas

As alterações macroscópicas, microscópicas e imunohistoquímicas estão descritas detalhadamente no Quadro 7.

Com relação aos achados macroscópicos, no coração, observou-se algum grau de espessamento da parede ventricular esquerda (5/22) (Figura 7) e, lesões extra-renais de uremia, incluindo glossite (6/22) e estomatite ulcerativas (1/22) (Figuras 4-6), pneumopatia (1/22) e gastropatia urêmicas (8/22), com ulceração da mucosa estomacal (5/22) (Figuras 8-10) e mineralização da musculatura intercostal (3/22) e da faringe e laringe (1/22) (Figura 11). Verificou-se ainda endocardiose em graus variados (11/22).

Todos os rins avaliados apresentaram lesão ao exame macroscópico; em alguns havia lesões mais discretas, em outros com lesões crônicas bem marcadas, como atrofia, superfície irregular, fibrose e alteração na relação cortico-medular (Figuras 12- 15).

A avaliação microscópica revelou lesão, em todos os animais, em diferentes graus, e em casos mais severos houve hialinização e esclerose glomerular, necrose das células tubulares, mineralização de algumas estruturas, inflamação associada e fibrose intersticial (Figuras 18 e 19).

O exame histológico revelou, no coração de todos os cães, grupos de miócitos cardíacos com aumento da eosinofilia e, em alguns casos, havia perda de estriação, citoplasma com aspecto homogêneo e eosinofílico, edema, lise celular, cariopícnose, cariólise, além de infiltrado inflamatório mononuclear e deposição de material basofílico (mineralização) (Figuras 22, 24, 26, 28, 30, 32 e 34). Em 11 animais, observou-se lesão vascular associada, que variou de leve tumefação das células endoteliais até necrose, com deposição de material eosinofílico- masson positivo- na parede vascular e mineralização (Figuras 20 e 21).

A histoquímica realizada nos três cães caracterizou a substância amorfa e eosinofílica depositada em alguns vasos deste estudo como colágeno. Nos caninos 2 e 4 a esse material

encontrado na parede do vaso apresentou uma coloração alaranjada com filamentos azulados (fibrina) pelo método da hematoxilina-ácido fosfotúngstica (Figuras 21 e 23) e uma coloração azulada pelo tricrômico de Masson, ambos resultados evidenciando o colágeno (Figuras 25 e 27). No canino 5 o tricrômico de Masson evidenciou áreas de lesão inicial do miocárdio, ou seja, aumento de eosinofilia citoplasmática pela coloração pela hematoxilina e eosina; embora essas lesões também fossem identificáveis pela coloração rotineira, foi melhor visualizada por essa técnica histoquímica (Figuras 29, 31 e 33)

Ao exame imuno-histoquímico, verificou-se redução dos níveis de expressão da cTnC no citoplasma de grupos de fibras musculares. Diminuição significativa na imunorreatividade ocorreu, sobretudo, em cardiomiócitos que apresentavam, no exame histopatológico, aumento da eosinofilia citoplasmática ou nas células com características histológicas de morte celular à avaliação da microscopia óptica (Figuras 23, 25, 27, 29, 31, 33 e 35). Nos cães utilizados como controle positivo (animais sem lesão cardíaca) observou-se marcada imunorreatividade em miócitos intactos (Figura 16) e, em cães utilizados como controle negativo (animais com lesão cardíaca), os cardiomiócitos lesionados apresentaram ausência de imunomarcagem citoplasmática (Figura 17). Em alguns casos, verificou-se que pela imunohistoquímica, a lesão cardíaca era mais extensa e significativa do que pela coloração pela H.E. permitia identificar.

**Quadro 6 - Identificação, principais achados laboratoriais e outras informações dos cães com Doença Renal Crônica**

Identificação/ procedência	Número de registro / idade e sexo	**Ureia	**Creatinina	**Potássio	Outros dados
		Referência 10-28 mg/dL	Referência 0,5 – 1,5 mg/dL	Referência 4,37 – 5,35 mmol/L	
<b>CANINO 1 UFRRJ</b>	H 96/13 N 129/13 9 anos/ F	<b>134</b>	<b>6,4</b>	–	USG: Ambos apresentando parênquima hiperecogênico e irregular, espessamento cortical e relação cortico-medular alterada, sugerindo nefropatia crônica leve
<b>CANINO 2 UFRRJ</b>	H 122/13 N 154/13 11 anos/ F	<b>292</b>	<b>6,9</b>	<b>5,4</b>	Dados clínicos: hálito urêmico, poliúria, nefrectomia esquerda há cinco anos
<b>CANINO 3 UFRRJ</b>	H 160/13 N 191/13 N.I. /F	<b>SEM HISTÓRICO</b>			
<b>CANINO 4 UFRRJ</b>	H 185/13 N 217/13 11 anos/ F	<b>95</b>	<b>2,2</b>	<b>7,0</b>	Fósforo: 7,8 mg/dL (referência 2,9-5,3)
<b>CANINO 5 UFRRJ</b>	H 144/14 N 77/14 12 anos/ M	<b>335</b>	<b>8,3</b>	–	–
<b>CANINO 6 UFRRJ</b>	H 147/14 N 78/14 Idoso/ F	<b>435</b>	<b>7,6</b>	–	Hemograma: anemia normocítica normocrômica
<b>CANINO 7 UFRRJ</b>	H 163/14 N 97/14 4 anos/ M	<b>287</b>	<b>4,69</b>	–	Hemograma: <i>Ehrlichia canis</i> em monócitos; anemia Urinalise: densidade- 1020 (normal 1025-1045); bactérias- pequena quantidade; cristais: oxalato de cálcio – acentuada quantidade

Legenda: H – Número de registro da histopatologia, N – Número de registro da necropsia, \*N – Número de registro de necropsia e histopatologia, F – Fêmea, M – Macho, USG – Ultrassonografia, UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFBA – Universidade Federal da Bahia, N.I. – Não informado  
 \*\* Valores de referência baseados no KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008

**Quadro 6. Continuação**

<b>CANINO 8 UFRRJ</b>	H 178/14 N 113/14 11 meses /M	<b>664</b>	<b>7,5</b>	–	Hemograma: anemia normocítica normocrômica
<b>CANINO 9 UFRRJ</b>	H 206/14 N 129/14 9 anos/ F	<b>173</b>	<b>3,0</b>	<b>7,1</b>	Hemograma: anemia normocítica normocrômica
<b>CANINO 10 UFRRJ</b>	H 265/14 N 150/14 N.I./ M	<b>528</b>	<b>10</b>	<b>7,4</b>	–
<b>CANINO 11 UFBA</b>	*N 149/13 5anos/ F	<b>348</b>	<b>6,0</b>	–	Hemograma: anemia leve
<b>CANINO 12 UFBA</b>	*N 151/13 10 anos/ F	<b>346,4</b>	<b>8,2</b>	<b>8,0</b>	USG: rim direito reduzido, perda de definição córtico-medular, perda de arquitetura interna, sugestivo de nefropatia crônica Hemograma: anemia com anisocitose
<b>CANINO 13 UFBA</b>	*N 179/13 6 anos/ F	<b>201</b>	<b>1,8</b>	–	Doenças prévias: Erliquiose, Tumor Venéreo Transmissível Canino, Leishmaniose Urinalise: densidade urinária- 1012; proteinúria e bacteriúria acentuada; sangue- traços Hemograma: anemia leve
<b>CANINO 14 UFBA</b>	*N 263/13 11anos/ F	<b>SEM HISTÓRICO</b>			
<b>CANINO 15 UFBA</b>	*N 275/13 18 anos/ M	<b>193</b>	<b>7,4</b>	<b>6,0</b>	Dados clínicos: tratamento prévio para doença cardíaca; cistite, vômito há 2 dias, halitose urêmica, epilepsia. Chegou na emergência com parada cardiorespiratória e foi realizada reanimação. Animal também apresentou convulsão. Hemograma: anemia leve USG: ambos os rins apresentaram moderada perda de definição cortico-medular e imagens sugestivas de nefropatia ou senilidade

Legenda: H – Número de registro da histopatologia, N – Número de registro da necropsia, \*N – Número de registro de necropsia e histopatologia, F – Fêmea, M – Macho, USG – Ultrassonografia, UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFBA – Universidade Federal da Bahia, N.I. – Não informado 46

\*\* Valores de referência baseados no KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008

### Quadro 6. Continuação

<b>CANINO 16 UFBA</b>	*N 14/14 10 anos/ M	<b>84</b>	<b>1,8</b>	-	Urinalise: densidade da urina 1036; bacteriúria
<b>CANINO 17 UFBA</b>	*N 22/14 8 anos/ M	<b>331</b>	<b>9,9</b>	<b>10</b>	Dados clínicos: anorexia, vômito e anúria (4 dias) Urinalise: densidade 1020; proteinúria, bacteriúria e hemoglobinúria acentuada; aglomerados leucocitários
<b>CANINO 18 UFBA</b>	*N 95/14 08 anos/ M	<b>197</b>	<b>4,6</b>	<b>6,4</b>	Dados clínicos: urina escurecida, anúria há um dia e halitose urêmica
<b>CANINO 19 UFBA</b>	*N 96/14 12 anos/ F	<b>88</b>	0,8	<b>2,2</b>	Dados clínicos: anorexia, halitose urêmica, desidratação e úlcera de córnea bilateral
<b>CANINO 20 UFBA</b>	*N 130/14 12 anos/ M	-	-	-	Dados clínicos: hematemesa
<b>CANINO 21 UFBA</b>	*N 132/14 7 anos/ M	<b>123,4</b>	<b>3,69</b>	-	Dados clínicos: histórico de obstrução urinária. Na consulta, apresentou hematúria, aumento de volume em prepúcio e bolsa escrotal e fístula próxima da região perianal Urinalise: leucocitose; pH 8,0 (referência 5 - 7); proteinúria acentuada; bacteriúria leve; estruvita em pequena quantidade
<b>CANINO 22 UFBA</b>	*N 133/14 14 anos/ M	<b>418</b>	<b>7,5</b>	<b>2,9</b>	Fósforo: 13,8 (referência 2,5-5 mg/dl) Hemograma: anemia leve

Legenda: H – Número de registro da histopatologia, N – Número de registro da necropsia, \*N – Número de registro de necropsia e histopatologia, F – Fêmea, M – Macho, USG – Ultrassonografia, UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFBA – Universidade Federal da Bahia, N.I. – Não informado  
\*\* Valores de referência baseados no KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008

**Quadro 7- Resultados dos exames macroscópicos, microscópicos e imunohistoquímicos**

Canino	Alterações macroscópicas	Alterações microscópicas (H.E.)	Imunoreatividade com anticorpo anti-troponina C
1	<p><b>Coração:</b> marcada hipertrofia do ventrículo esquerdo e do músculo papilar associada à redução da câmara ventricular esquerda</p> <p><b>Pulmão:</b> pequena quantidade de líquido espumoso esbranquiçado nos brônquios (leve edema)</p>	<p><b>Coração:</b> tumefação e vacuolização de cardiomiócitos, fragmentação e mineralização de algumas fibras cardíacas que por vezes apresentam-se binucleadas, áreas de leve a moderada fibrose intersticial, poucos neutrófilos, edema leve e lipofuscina</p>	<p>Variação de sutil a leve no padrão de marcação; alguns miócitos isolados apresentam perda marcada da imunoreatividade</p>
	<p><b>Rins:</b> superfície irregular com alguns cistos e exsudato purulento na pelve de ambos os rins (pielonefrite)</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite membrano-proliferativa, esclerose glomerular, espessamento da cápsula de Bowman, presença de alguns cristais, presença de gotas hialinas no citoplasma das células epiteliais de alguns túbulos, fibrose intersticial associada à infiltrado inflamatório linfocítico e fibrose na pelve renal com inflamação mononuclear rica em plasmócitos e macrófagos</p>	
2	<p><b>Coração:</b> endocardiose leve e hipertrofia ventricular esquerda moderada</p>	<p><b>Coração:</b> hipereosinofilia do citoplasma de alguns cardiomiócitos com redução das estriações, infiltrado inflamatório neutrofílico multifocal leve, edema sutil entre as fibras cardíacas e congestão leve; alteração vascular com tumefação das células da camada média e depósito de substância amorfa e eosinofílica protéica abaixo da íntima e da média</p>	<p>Alguns grupos de miócitos apresentam de moderada a acentuada redução da imunoreatividade; alguns miócitos isolados sem imunomarcação</p>
	<p><b>Rins:</b> ausência do rim esquerdo (nefrectomia anterior realizada); rim direito com relação da proporção cortico medular alterada e estrias esbranquiçadas no córtex e na medular</p>	<p><b>Rins:</b> dilatação da cápsula de Bowman, aumento do filtrado glomerular, tumefação e vacuolização em células tubulares no córtex com necrose de coagulação em alguns túbulos infiltrado inflamatório neutrofílico na pelve renal, cristais no lúmen de alguns túbulos</p>	

Legenda: H.E.- Hematoxilina e Eosina

### Quadro 7. Continuação

3	<b>Coração:</b> sem alteração	<b>Coração:</b> alguns grupos de fibras com aumento da eosinofilia citoplasmática	Alguns grupos de miócitos apresentam de moderada a acentuada redução da imunomarcação
	<b>Rins:</b> ambos com áreas deprimidas de aproximadamente 1,5x1,0 cm nos polos craniais (provável cicatrizes relacionadas à áreas de infarto crônico) e perda de contorno. Havia ainda três urólitos na bexiga de dimensões de aproximadamente 5x4x3cm, 2x2x4cm e 1,5x1,5x2,5cm	<b>Rins:</b> glomerulonefrite membranosa, dilatação da cápsula de Bowman, atrofia de alguns glomérulos, moderado infiltrado inflamatório predominantemente linfoplasmocitário na pelve e no interstício renal, principalmente no córtex, fibrose intersticial severa (em alguns focos a fibrose era marcada na região periglomerular). Havia ainda degeneração e tumefação em células tubulares do córtex com presença de pigmento marrom-amarelado (bile) em alguns túbulos e, em outros cilindros hialinos, alguns cistos de retenção urinária, discreto edema e espessamento de vasos, com degeneração da média e depósito de substância amorfa e eosinofílica	
4	<b>Coração:</b> formato globoso, aurícula direita bem dilatada, moderada endocardiose das válvulas mitral e tricúspide	<b>Coração:</b> algumas fibras mais eosinofílicas com ausência de núcleo e de estriações, infiltrado inflamatório predominantemente linfocítico e leve edema entre as fibras, áreas focais de fibrose intersticial; lesões vasculares moderadas a acentuadas, com degeneração e necrose de células endoteliais e deposição de material eosinofílico na parede vascular e no interior dos vasos	Pequenos grupos ou miócitos isolados com redução de leve a moderada de imunomarcação e alguns grupos apresentam marcada perda da imunorreatividade
	<b>Rins:</b> superfície acentuadamente irregular, com pequeno cisto de retenção e córtex de aspecto irregular	<b>Rins:</b> glomerulonefrite crônica septal com alguns glomérulos diminuídos de tamanho, fibrose periglomerular, degeneração coagulativa de células tubulares, alguns já com mineralização, cilindros hialinos, infiltrado inflamatório linfoplasmocitário periglomerular e pigmento de hemoglobina	

Legenda: H.E.- Hematoxilina e Eosina

### Quadro 7. Continuação

5	<p><b>Coração:</b> endocardiose na mitral e hipertrofia moderada do ventrículo esquerdo</p> <p><b>Pulmão:</b> pequena quantidade de líquido espumoso esbranquiçado na luz dos brônquios (leve edema)</p>	<p><b>Coração:</b> fibras com miócitos sem estriações, aspecto homogêneo e eosinofílico com picnose, necrose e mineralização de algumas células, moderada inflamação linfoplasmocitária com alguns macrófagos, marcada presença de células com núcleo ovóide e cromatina condensada ao redor do centro do núcleo, áreas multifocais a coalescentes de fibrose perivascular; lesão vascular leve com alterações degenerativas em algumas células endoteliais, em uma arteríola da aurícula havia necrose coagulativa marcada do endotélio, cariorrexia e fibrose</p>	<p>Alguns focos extensos com moderada à acentuada diminuição da imunoreatividade e algumas áreas com ausência total. Algumas destas áreas são bem delimitadas</p>
	<p><b>Rins:</b> superfície irregular com múltiplos pontos avermelhados, cortical com estrias esbranquiçadas e medular com aspecto moteado. Havia ainda múltiplos cistos de retenção urinária</p>	<p><b>Rins:</b> dilatação e espessamento da cápsula Bowman, ausência de alguns glomérulos, focos múltiplos de marcada inflamação linfoplasmocitária organizada em sentido longitudinal, tumefação de células tubulares, mineralização de alguns túbulos próximos à pelve degeneração em gotas hialinas, ectasia de túbulos renais e fibrose perivascular</p>	
	<p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b> Língua: úlceras bem delimitadas Estômago: Mucose edemaciada e com mancha vermelho-enechrecido medindo 5x4 cm, conteúdo sanguinolento</p>		
6	<p><b>Coração:</b> endocardiose leve de tricúspide e moderada de mitral</p>	<p><b>Coração:</b> cardiomiócitos eosinofílicos e sem estriações, aspecto homogêneo e eosinofílico com picnose/ausência nuclear, infiltrado inflamatório predominantemente composto por macrófagos e marcada congestão, edema moderado, fibrose intersticial incipiente; espessamento da parede vascular com degeneração e lise de células da média com depósito de material amorfo e eosinofílico</p>	<p>Áreas com diminuição de acentuada à ausência total da expressão de troponina; algumas áreas sem imunoreatividade se apresentam bem delimitadas em outras a perda da marcação é mais difusa, com perda de marcação individualizada</p>

Legenda: H.E.- Hematoxilina e Eosina

### Quadro 7. Continuação

	<p><b>Rins:</b> superfície irregular, com pontos avermelhados, medular congesta com estrias mais escuras próximas à pelve e algumas mais esbranquiçadas</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite membrano-proliferativa, focos de marcada inflamação linfoplasmocitária principalmente periglomerular e congestão moderada</p>	
	<p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b> Estômago: mucosa edemaciada</p>		
7	<p><b>Coração:</b> sem alterações. <b>Traquéia:</b> moderada quantidade de líquido espumoso esbranquiçado na luz</p>	<p><b>Coração:</b> necrose de alguns miócitos com reação inflamatória mista; foco de necrose marcada da parede vascular com inflamação neutrofílica e fibrina, lesões vasculares incipientes em outras áreas, com células endoteliais apresentando características degenerativas</p>	Moderada a acentuada perda de imunorreatividade, por vezes em grandes focos ou em miócitos individualizados
	<p><b>Rins:</b> múltiplos pontos esbranquiçados distribuídos pelo córtex e superfície capsular de ambos os rins e estriações esbranquiçadas em córtex e medula</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite membranosa, mineralização da cápsula de Bowman, pielonefrite crônica leve, mineralização em alguns túbulos, pigmento biliar intratubular e focos de inflamação linfoplasmocitária intersticial</p>	
8	<p><b>Coração:</b> aumentado e globoso, hipertrofia moderada da musculatura ventricular esquerda, petéquias no endocárdio e grande quantidade de líquido gelatinoso coagulado com fibrina no saco pericárdico</p>	<p><b>Coração:</b> múltiplos focos e extensas áreas de necrose e degeneração com infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e fibrose, áreas com edema intersticial e hemorragia; tumefação de células da camada média dos vasos com depósito de substância amorfa e eosinofílica e fibrose perivascular</p>	Acentuada perda da imunorreatividade foi observada de pequenos à extensos focos de cardiomiócitos; em algumas áreas essa perda é total. Algumas áreas sem imunorreatividade se apresentam bem delimitadas
	<p><b>Rins:</b> túrgidos, pálidos, com superfície levemente irregular. No rim esquerdo havia duas áreas deprimidas (provável cicatrizes relacionadas à áreas de infarto crônico), estrias esbranquiçadas na medular, inúmeros pequenos pontos avermelhados na cortical (microcistos de retenção)</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite proliferativa, dilatação da cápsula de Bowman e alguns focos de inflamação linfoplasmocitária</p>	

Legenda: H.E.- Hematoxilina e Eosina

### Quadro 7. Continuação

	<p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b> Língua: úlceras bem delimitadas Estômago: moderadamente edemaciado com forte odor amoniacal, pequenas áreas deprimidas</p>		
9	<p><b>Coração:</b> endocardite na válvula mitral e aórtica. Moderada hipertrofia do ventrículo esquerdo <b>Pulmão:</b> pequena quantidade de líquido espumoso esbranquiçado nos brônquios (leve edema)</p>	<p><b>Coração:</b> necrose de algumas fibras acompanhada de inflamação mista, áreas de fibrose, presença de colônias bacterianas com associado infiltrado inflamatório neutrofílico; endarterite e deposição de material eosinofílico na parede dos vasos</p>	De moderada à acentuada perda de imunorreatividade em diversos cardiomiócitos
	<p><b>Rins:</b> ambos com a pelve dilatada e com a superfície cortical mosqueada, cistos de retenção no rim esquerdo, região medular diminuída e cápsula levemente aderida</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite membranosa com mineralização e esclerose de alguns glomérulos, infiltrado inflamatório intersticial predominantemente linfoplasmocitário, necrose e mineralização de algumas células tubulares e presença de cistos de retenção urinária</p>	
10	<p><b>Coração:</b> moderada quantidade de líquido translúcido no saco pericárdico, pontos avermelhados na musculatura do ventrículo esquerdo e discreta endocardiose em mitral. <b>Pulmão:</b> pequena quantidade de líquido espumoso esbranquiçado nos brônquios (leve edema)</p>	<p><b>Coração:</b> áreas com fibras de aspecto homogêneo e eosinofílico, picnose/ausência do núcleo, hemorragia e infiltrado inflamatório predominantemente composto por macrófagos</p>	Áreas com diminuição de acentuada à ausência total da expressão de troponina; algumas áreas sem imunorreatividade se apresentam bem delimitadas. Alguns grupos de miócitos apresentam perda mais leve da imunorreatividade
	<p><b>Rins:</b> superfície levemente irregular, com pequenos cistos de retenção, estriações esbranquiçadas na cortical e avermelhadas na medular</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite membrano-proliferativa, alguns glomérulos com espessamento da cápsula de Bowman com aderências, focos de inflamação linfo-plasmocitária, e leve fibrose do parênquima renal</p>	
	<p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b> Língua: úlcera com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro na extremidade e na face ventral havia ulceração alongada nos bordos laterais (1 de cada lado), de superfície irregular, esbranquiçadas, com 2 cm de comprimento e 1 cm largura</p>		

Legenda: H.E.- Hematoxilina e Eosina

**Quadro 7. Continuação**

11	<p><b>Coração:</b> áreas pálidas na parede ventricular esquerda sugestivas de miocardite.  <b>Pulmão:</b> pequena quantidade de líquido espumoso esbranquiçado nos brônquios (leve edema)</p>	<p><b>Coração:</b> área com cardiomiócitos mais eosinofílicos, com aspecto homogêneo e eosinofílico, ausência de estriações e picnose/ausência do núcleo, infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico com fibrina, leve edema e hemorragia entre as fibras, mineralização de algumas células; células endoteliais de alguns vasos tumefeitas e vacuolizadas, algumas com células inflamatórias infiltrando a parede e leve deposição de material amorfo e eosinofílico</p>	<p>Áreas, por vezes bem delimitadas, com diminuição acentuada ou perda total da expressão de troponina. Em alguns campos, há perda da imunomarcagem em miócitos individuais ou em pequenos grupos de fibras</p>
	<p><b>Rins:</b> pálidos, com pontos esbranquiçados na superfície, linfonodo próximo ao rim aumentado de volume e hemorrágico</p> <p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b>  Língua: úlceras  Saco pericárdico: hidropericárdio  Cavidade abdominal: hidroperitônio  Estômago: conteúdo sanguinolento, pétequias e sufusão</p>	<p><b>Rins:</b> dilatação da cápsula de Bowman, hialinização glomerular com esclerose e mineralização de alguns glomérulos, necrose de células tubulares com mineralização, ectasia dos túbulos, infiltrado inflamatório intersticial linfoplasmocitário (principalmente periglomerular), fibrose intersticial e edema</p>	
12	<p><b>Coração:</b> pericárdio coberto de gordura, leve hidropericárdio e congestão  <b>Pulmão:</b> moderada quantidade líquido espumoso esbranquiçado nos brônquios e traqueia (moderado edema)</p>	<p><b>Coração:</b> algumas fibras vacuolizadas e sem estriações, afiladas e binucleadas, epicardite, edema entre as fibras, fibrose intersticial; espessamento e necrose da parede vascular com extravasamento de fibrina e hemácias</p>	<p>De leve à moderada perda da imunorreatividade foi observada em miócitos individualizados e em pequenos focos</p>
	<p><b>Rins:</b> esquerdo com superfície irregular, medindo 7 x 5,1 cm de tamanho, cápsula intensamente aderida, fibrose, e com aspecto microcístico. Direito diminuído de tamanho, medindo aproximadamente 5,4 x 3,1 cm</p>	<p><b>Rins:</b> infiltrado inflamatório intersticial predominantemente linfocítico, marcada mineralização nos túbulos na medular, fibrose intersticial e pigmento biliar</p>	

Legenda: H.E.- Hematoxilina e Eosina

### Quadro 7. Continuação

13	<p><b>Coração:</b> sem alteração</p> <p><b>Pulmão:</b> pequena quantidade de líquido espumoso esbranquiçado nos brônquios e traqueia (leve edema)</p>	<p><b>Coração:</b> infiltrado inflamatório mononuclear e leve edema entre as fibras; leve tumefação das células da parede vascular com depósito inicial de substância eosinofílica</p>	Perda sutil de imunomarcação em miócitos isolados ou em pequenos grupos
	<p><b>Rins:</b> firmes ao corte, com estrias esbranquiçadas na região cortical, nefrocalcinose e pequenos pontos brancos na superfície</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite membranosa, espessamento da cápsula de Bowman, hialinização glomerular, tumefação do epitélio tubular com mineralização de alguns túbulos, marcado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e fibrose intersticial</p>	
	<p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b> Musculatura: mineralização intercostal</p>		
14	<p><b>Coração:</b> leve hidropericárdio.</p> <p><b>Pulmão:</b> pequena quantidade de líquido espumoso esbranquiçado nos brônquios (leve edema)</p>	<p><b>Coração:</b> algumas áreas com pequenos grupos de fibras hipereosinofílicas e fragmentadas sem núcleo, infiltrado inflamatório predominantemente polimorfonuclear e edema.</p>	Pequenos a grandes grupos de miócitos com moderada a acentuada perda imunorreatividade
	<p><b>Rins:</b> áreas deprimidas (provável cicatrizes relacionadas à áreas de infarto crônico), superfície irregular, urólito e múltiplos pontos esbranquiçados milimétricos na região cortical</p>	<p><b>Rins:</b> marcada dilatação de espaços glomerulares, cristais em túbulos, mineralização incipiente nos túbulos e extravasamento de proteína para o filtrado glomerular</p>	
	<p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b> Estômago: mucosa espessada, esbranquiçada e firme (“aspecto ladrilhado”)</p>		
15	<p><b>Coração:</b> endocardiose moderada de mitral</p>	<p><b>Coração:</b> área extensa contendo cardiomiócitos mais eosinofílicos com redução na estriação e ausência de alguns núcleos e outras pequenas áreas com as mesmas características, além de infiltrado inflamatório predominantemente linfoplasmocitário e fibrose</p>	De moderada a acentuada perda de imunorreatividade em área extensa e bem delimitada. Outros pequenos focos com acentuada diminuição da imunorreatividade

**Quadro 7. Continuação**

	<b>Rins:</b> pálidos, com superfície irregular e cistos de retenção	<b>Rins:</b> glomerulite membranosa, espessamento e dilatação da cápsula de Bowman, aumento do filtrado, fibrose intersticial principalmente periglomerular, infiltrado inflamatório linfoplasmocitário intersticial, cistos de retenção urinária, discreta inflamação linfoplasmocitária na pelve e mineralização de túbulos	
	<b>Lesões extra-renais da uremia:</b> Lábio: úlcera no lábio superior direito		
16	<b>Coração:</b> endocardiose de mitral	<b>Coração:</b> algumas células isoladas com citoplasma com aspecto homogêneo e eosinofílico, alguns miócitos com citoplasma fragmentado e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário	Moderada perda de imunorreatividade em diversas áreas da secção histológica, tanto em pequenos grupos quanto em fibras individualizadas
	<b>Rins:</b> pálidos, com superfície irregular, áreas deprimidas e fibrosadas na superfície	<b>Rins:</b> nefrite intersticial linfoplasmocitária, degeneração hidrópica microvacuolar nos túbulos, alguns focos de mineralização, fibrose intersticial, glomerulonefrite membranosa, espessamento cápsula de Bowman e hialinização glomerular	
	<b>Lesões extra-renais da uremia:</b> Musculatura: mineralização intercostal e em faringe/laringe		
17	<b>Coração:</b> sem alterações	<b>Coração:</b> alguns miócitos discretamente mais eosinofílicos	Moderada perda de imunorreatividade em pequenos focos
	<b>Rins:</b> pálidos, com petéquias multifocais. Regiões cortico-medular e medular com áreas de hemorragia	<b>Rins:</b> leve infiltrado inflamatório linfocítico e áreas de hemorragia	
	<b>Lesões extra-renais da uremia:</b> moderada gastrite ulcerativa		
18	<b>Coração:</b> endocardiose de leve a moderada na válvula mitral	<b>Coração:</b> alguns miócitos mais eosinofílicos e sem estriação, inflamação mononuclear rica em macrófagos e leve edema entre as miofibras, áreas de fibrose	Sutil perda de imunorreatividade em pequenos grupos e fibras individualizadas

Legenda: H.E.- Hematoxilina e Eosina

### Quadro 7. Continuação

	<p><b>Rins:</b> pálidos, com moderada aderência capsular, superfície irregular e leve congestão cortico-medular</p>	<p><b>Rins:</b> ectasia de túbulos, degeneração em gotas hialinas, focos de inflamação linfoplasmocitária (principalmente periglomerular) e pigmento biliar em alguns túbulos</p>	
	<p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b> mucosa gástrica com espessamento da parede (“aspecto ladrilhado”), firme à palpação</p>		
19	<p><b>Coração:</b> leve endocardiose. <b>Pulmão:</b> líquido espumoso esbranquiçado nos brônquios (leve edema).</p>	<p><b>Coração:</b> discreto aumento de eosinofilia em alguns miócitos e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário</p>	Perda sutil de imunomarcção em alguns miócitos
	<p><b>Rins:</b> tamanho reduzido, aderência capsular, superfície irregular e petéquias na superfície</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite membranosa, necrose de algumas células tubulares, aumento de atividade pro-coagulatória nos vasos, alguns focos de inflamação linfoplasmocitária</p>	
20	<p><b>Coração:</b> endocardiose moderada e endocardite ulcerativa marcada com áreas de mineralização <b>Pulmão:</b> pequena quantidade de líquido espumoso esbranquiçado nos brônquios (leve edema)</p>	<p><b>Coração:</b> alguns miócitos mais eosinofílicos com perda da estriação e do núcleo, infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear com alguns neutrófilos, mineralização em algumas células; leve edema na parede dos vasos e mineralização em alguns destes</p>	Grupos com perda moderada de imunomarcção; alguns miócitos individualizados com perda mais acentuada
	<p><b>Rins:</b> pálidos</p>	<p><b>Rins:</b> cápsula de Bowman dilatada e com ausência do glomérulo, mineralização de túbulos da região cortical e ectasia de alguns túbulos, inflamação predominantemente linfoplasmocitária intersticial marcada e fibrose acentuada</p>	
	<p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b> Estômago: mucosa edemaciada e serosa com áreas avermelhadas, sufusões, equimoses e conteúdo gástrico de coloração enegrecida</p>		
21	<p><b>Coração:</b> hidropericárdio, linfangiectasia focal e endocardiose</p>	<p><b>Coração:</b> algumas células com citoplasma levemente mais eosinofílico, leve infiltrado inflamatório linfocítico e edema entre as fibras</p>	De leve a moderada diminuição da imunorreatividade em pequenos grupos de cardiomiócitos

Legenda: H.E.- Hematoxilina e Eosina

**Quadro 7. Continuação**

	<p><b>Rins:</b> pelve moderadamente dilatada (hidronefrose bilateral leve), pielonefrite bilateral com pequena quantidade de exsudato amarelada</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite membranosa, alguns focos de inflamação linfoplasmocitária periglomerular e na pelve renal, áreas com inflamação mista composta por linfócitos, plasmócitos e neutrófilos, acentuada degeneração hidrópica, degeneração em gotas hialinas em alguns túbulos, tumefação e vacuolização de células tubulares, leve fibrose intersticial, cristais intratubulares e pigmento marrom amarelado (bile) nos túbulos</p>	
	<p><b>Lesões extra-renais da uremia e outras alterações no sistema gênito-urinário:</b>  Pulmão: pontos arenosos multifocais  Estômago: erosões na mucosa  Bexiga: equimoses na serosa, mucosa com superfície irregular e áreas de necrose extensas, fibrina aderida a áreas ulceradas e hemorragia (cistite necrótica)  Uretra: urólitos de aproximadamente 0,2-0,4 mm de diâmetro na entrada do osso peniano, uretrite ulcerativa e fistula comunicando pele à luz uretral</p>		
22	<p><b>Coração:</b> epicárdio com pequenas áreas esbranquiçadas, miocárdio e endocárdio com consistência firme e áreas esbranquiçadas. Endocárdio do átrio esquerdo com superfície irregular e múltiplas erosões com aproximadamente 2mm</p>	<p><b>Coração:</b> fibras fragmentadas mais eosinofílicas com perda de estriação e algumas áreas com mineralização. Havia ainda inflamação linfoplasmocitária multifocal</p>	Focos de cardiomiócitos com moderada a acentuada perda de imunorreatividade
	<p><b>Rins:</b> esquerdo com pontos esbranquiçados na superfície, perda do contorno externo com áreas deprimidas (provável cicatrizes relacionadas à áreas de infarto crônico) e redução do córtex renal; direito mais pálido</p>	<p><b>Rins:</b> glomerulonefrite proliferativa com atrofia de alguns glomérulos, dilatação da cápsula de Bowman, aumento do filtrado glomerular, tumefação e degeneração de células tubulares do córtex (algumas já com mineralização), ectasia de túbulos, cristais intratubulares, fibrose intersticial e focos de inflamação predominantemente plasmocítica</p>	
	<p><b>Lesões extra-renais da uremia:</b>  Boca: odor amoniacal intenso; pequenas úlceras nos lábios inferior e superior e na borda da língua.  Cavidade torácica: áreas de mineralização na musculatura intercostal das primeiras costelas.  Estômago: odor amoniacal, múltiplas erosões e úlceras, hiperemia e espessamento da mucosa.</p>		



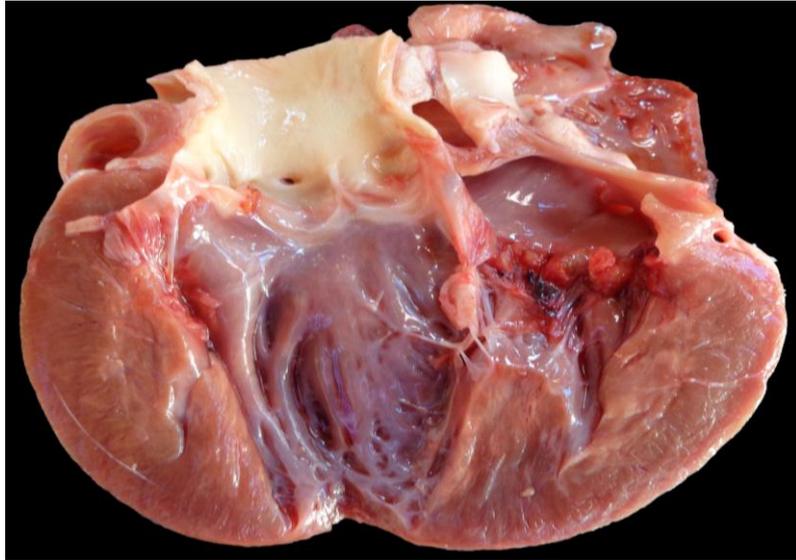
**Figura 4.** Úlceras nas bordas da face ventral da língua (detalhes) (Canino 10)



**Figura 5.** Úlceras bem delimitadas, elípticas nas bordas da face ventral da língua (detalhes) (Canino 5)



**Figura 6.** Úlceras com centro avermelhado no lábio inferior (detalhe) (Canino 15)



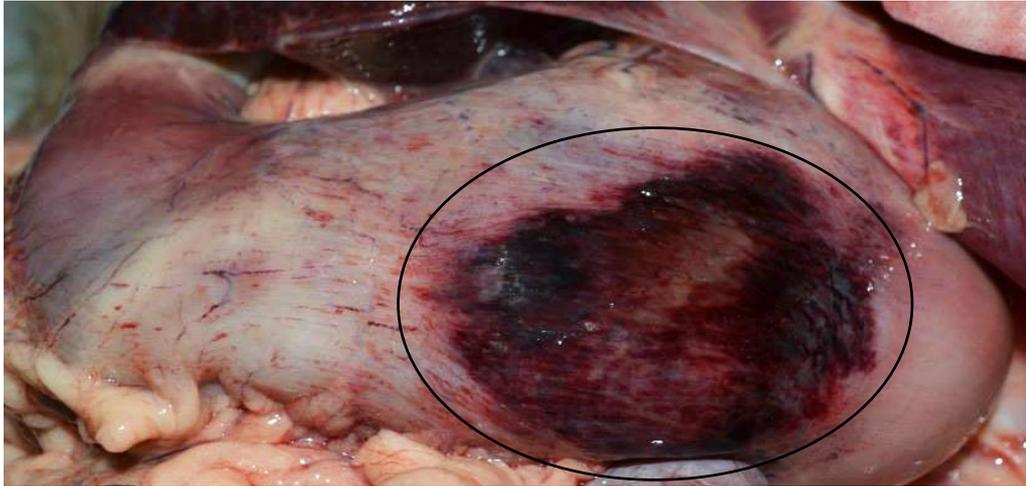
**Figura 7.** Coração com moderado espessamento irregular, opaco, com aspecto verrucóide da válvula mitral e moderada hipertrofia do ventrículo esquerdo (Canino 9)



**Figura 8-** Edema e espessamento da mucosa estomacal (Canino 4)



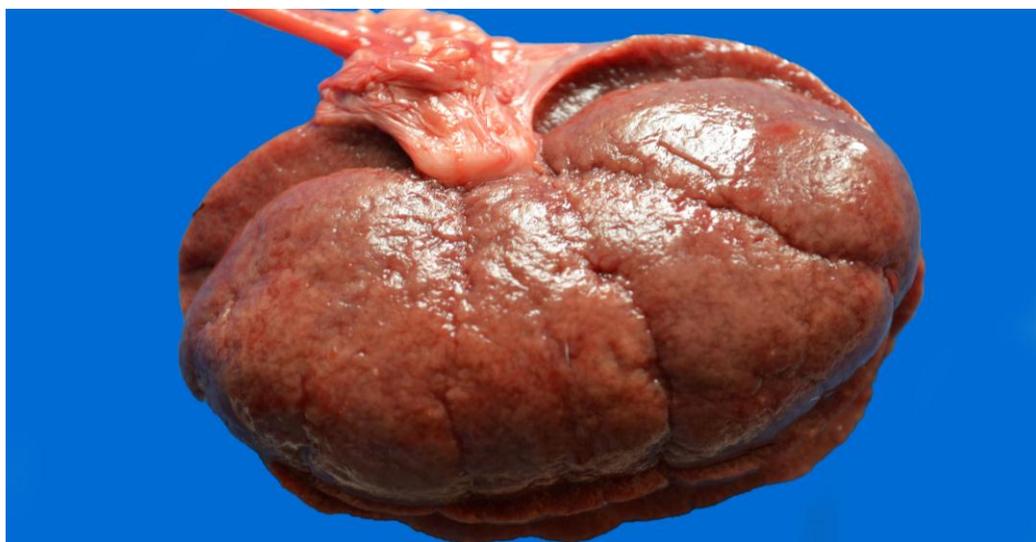
**Figura 9-** Gastrite ulcerativa multifocal, edema e espessamento das pregas. Detalhe de duas úlceras bem delimitadas e circunscritas (Canino 4)



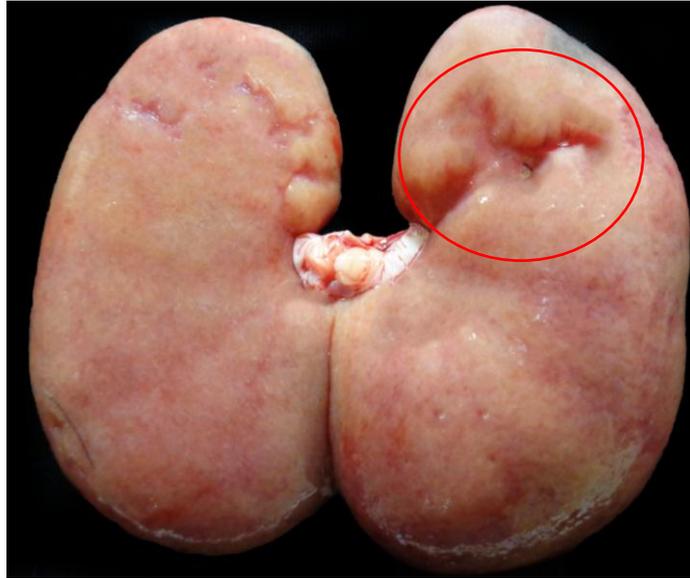
**Figura 10.** Estômago com úlcera de coloração vermelho-escura na mucosa e conteúdo sanguinolento (detalhe) (Canino 5)



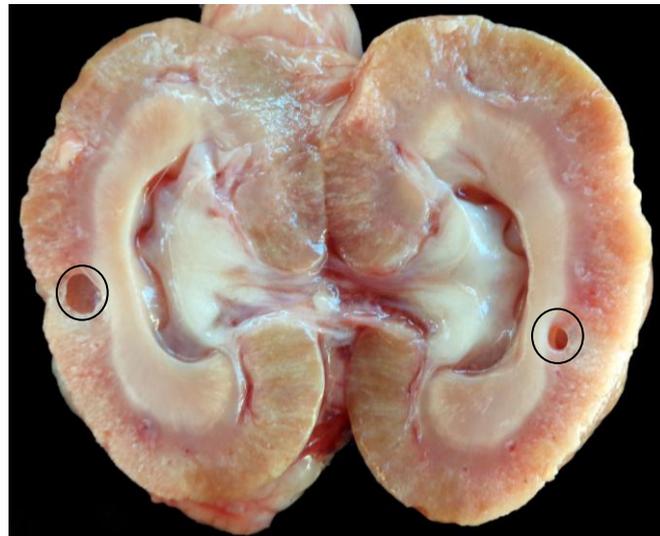
**Figura 11.** Estrias esbranquiçadas (seta) na musculatura intercostal (mineralização) (Canino 16)



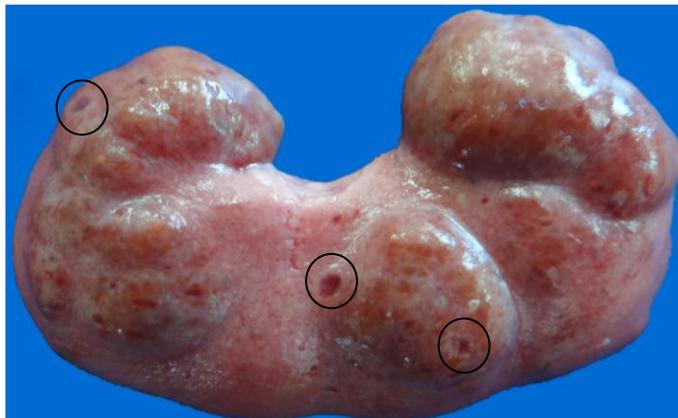
**Figura 12-** Rim com superfície irregular e retração do parênquima (Canino 4)



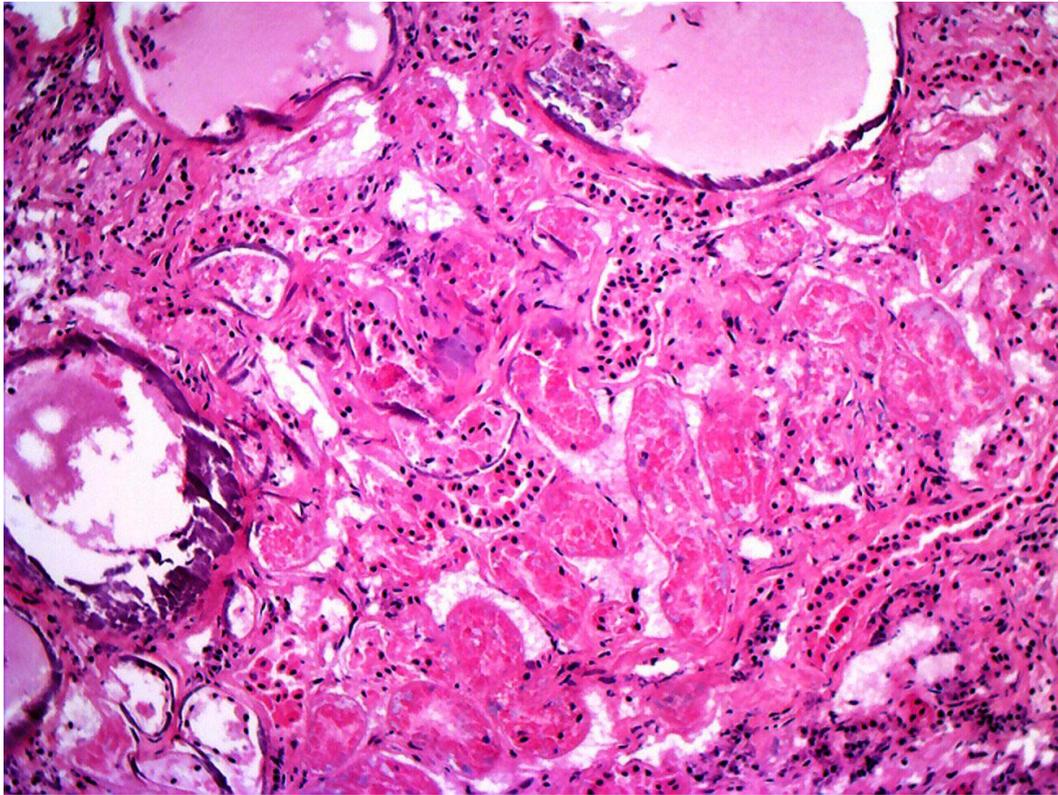
**Figura 13.** Área bem delimitada, deprimida e retraída (detalhe) da superfície renal (infarto crônico) (Canino 8)



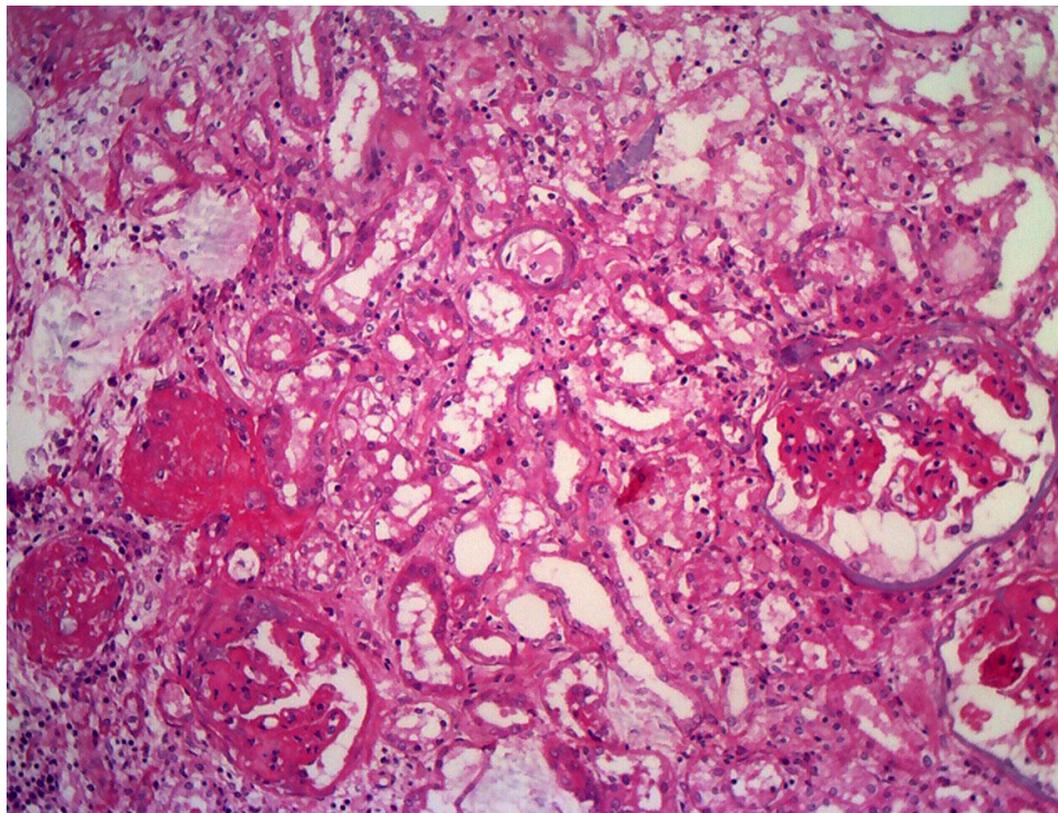
**Figura 14.** Rim com áreas de retração do parênquima, dilatação da pelve, presença de cistos de retenção no córtex (detalhe) e alteração da relação cortico medular (Canino 9)



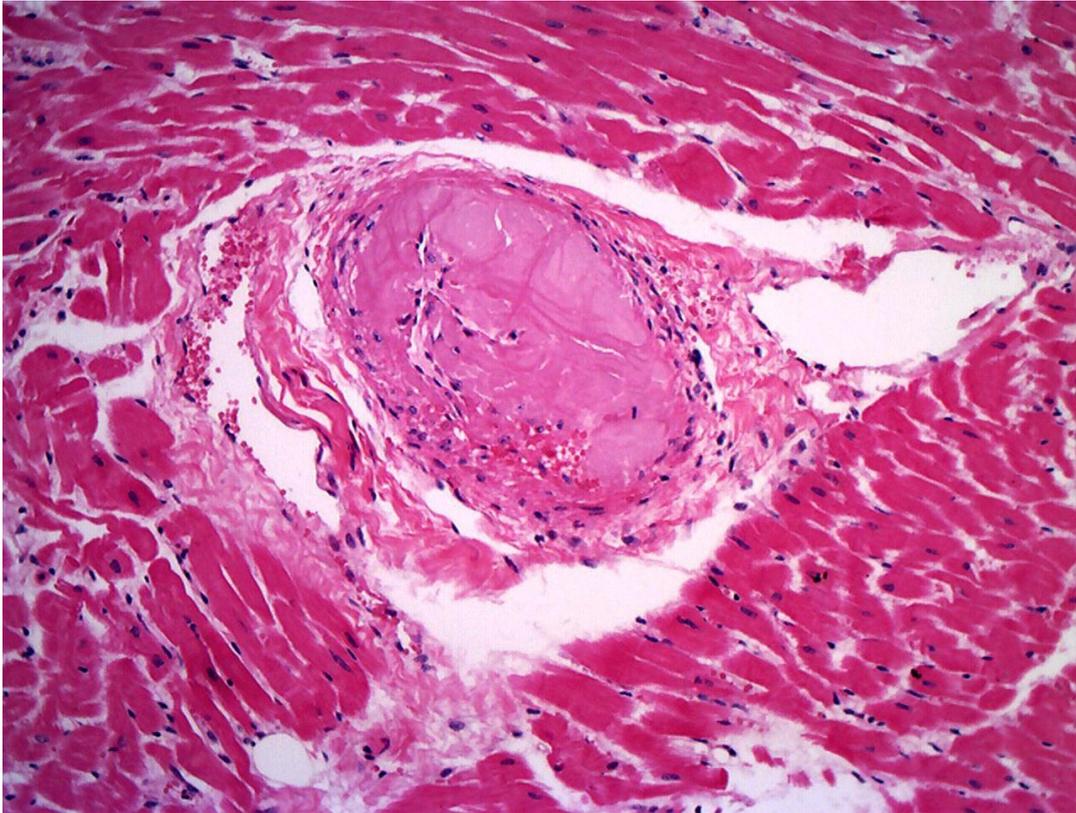
**Figura 15.** Rim com superfície irregular, retração do parênquima e presença de cistos de retenção (detalhe) (Canino 12)



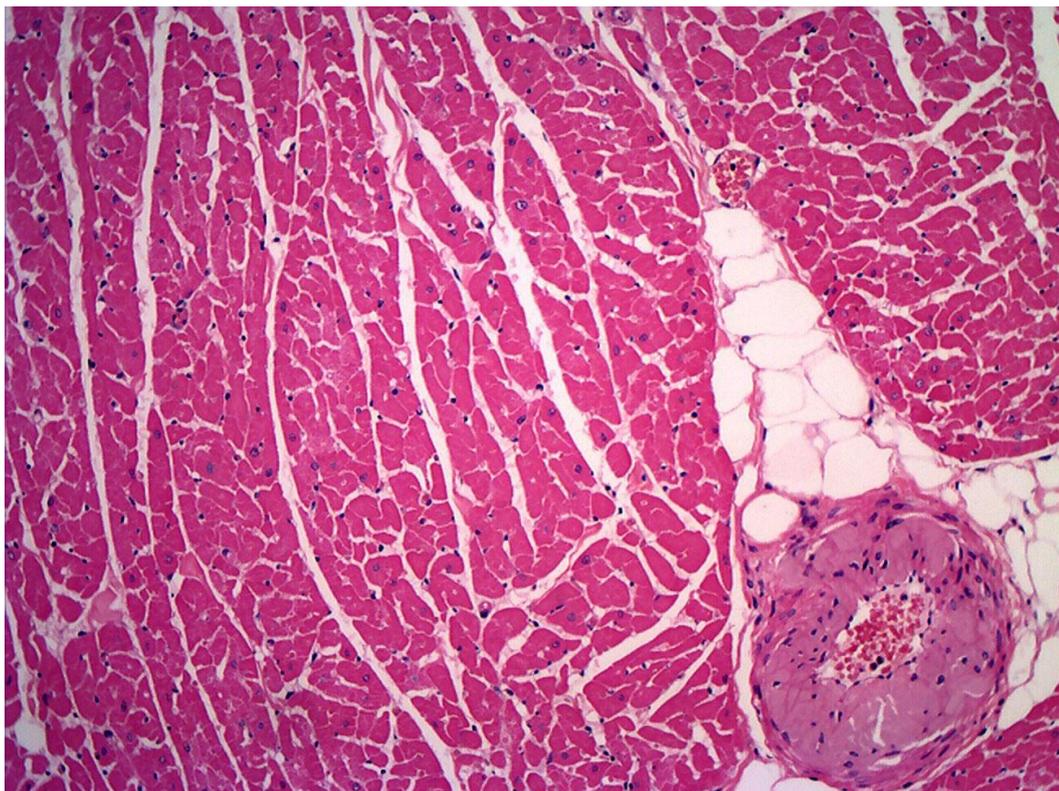
**Figura 16.** Dilatação do espaço de Bowman com aumento do filtrado, atrofia compressiva de tufo glomerular e acentuada mineralização da cápsula de Bowman. Adicionalmente há necrose coagulativa de parte das células epiteliais tubulares (Canino 9) Obj. 10x. H.E.



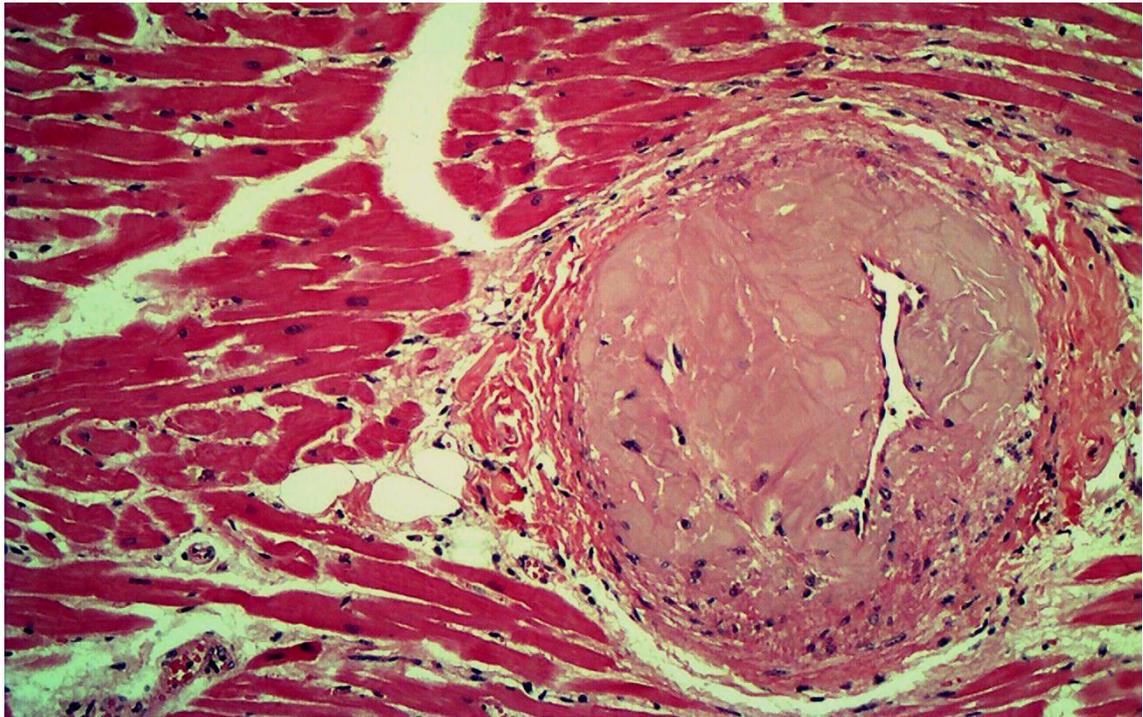
**Figura 17.** Dilatação do espaço de Bowman com espessamento da cápsula, mineralização, degeneração e necrose coagulativa de células epiteliais tubulares, ectasia de túbulos e leve inflamação linfoplasmocitária periglomerular. Adicionalmente verifica-se hialinização com esclerose glomerular (Canino 11) Obj. 10x. H.E.



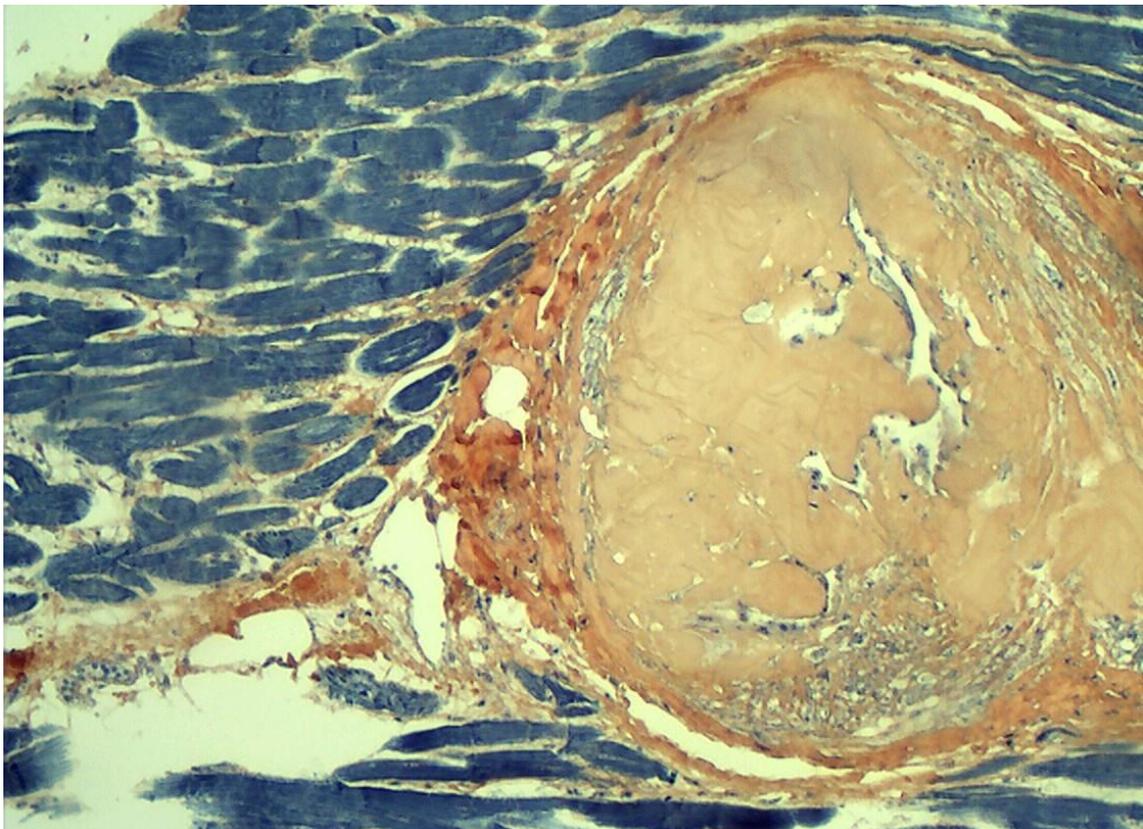
**Figura 18.** Acentuada “hialinização” da parede com obstrução da luz arteriolar (Canino 4) Obj. 10x. H.E.



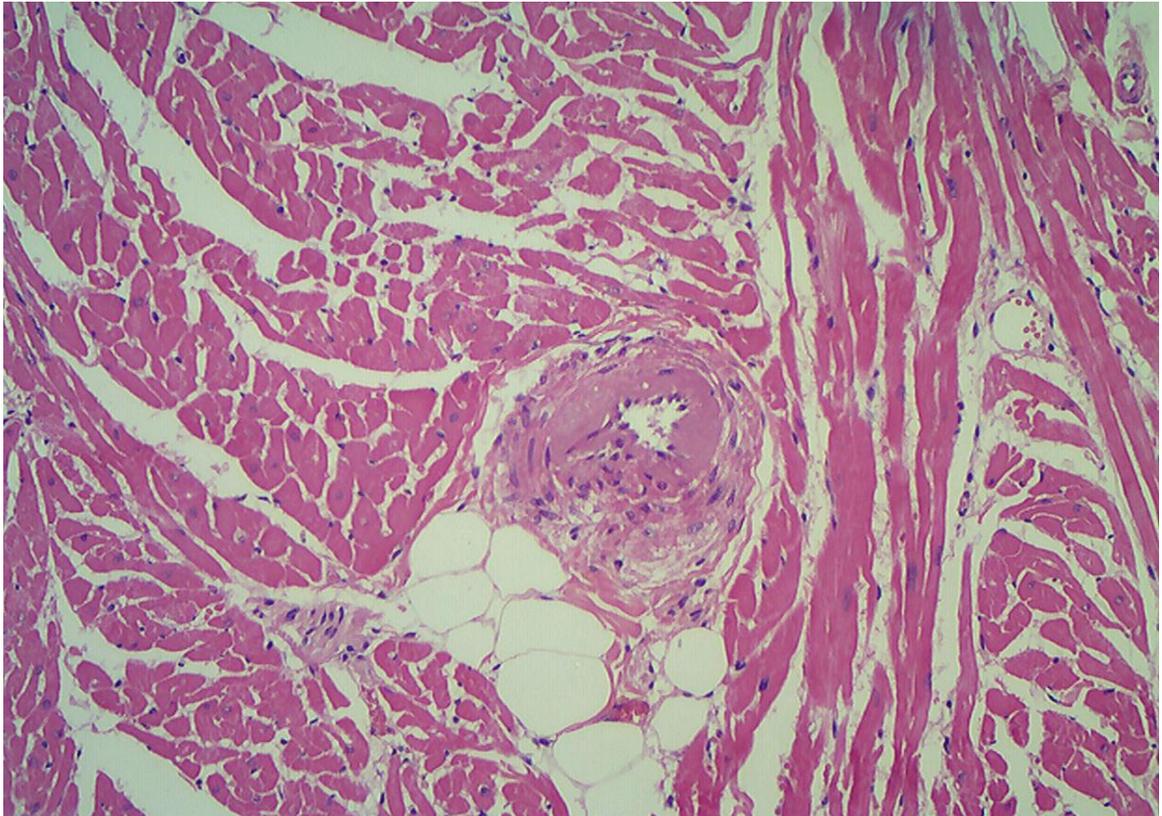
**Figura 19.** Espessamento da parede arteriolar por depósito de substância eosinofílica amorfa e redução do lúmen vascular. (Canino 2) Obj. 10x. H.E.



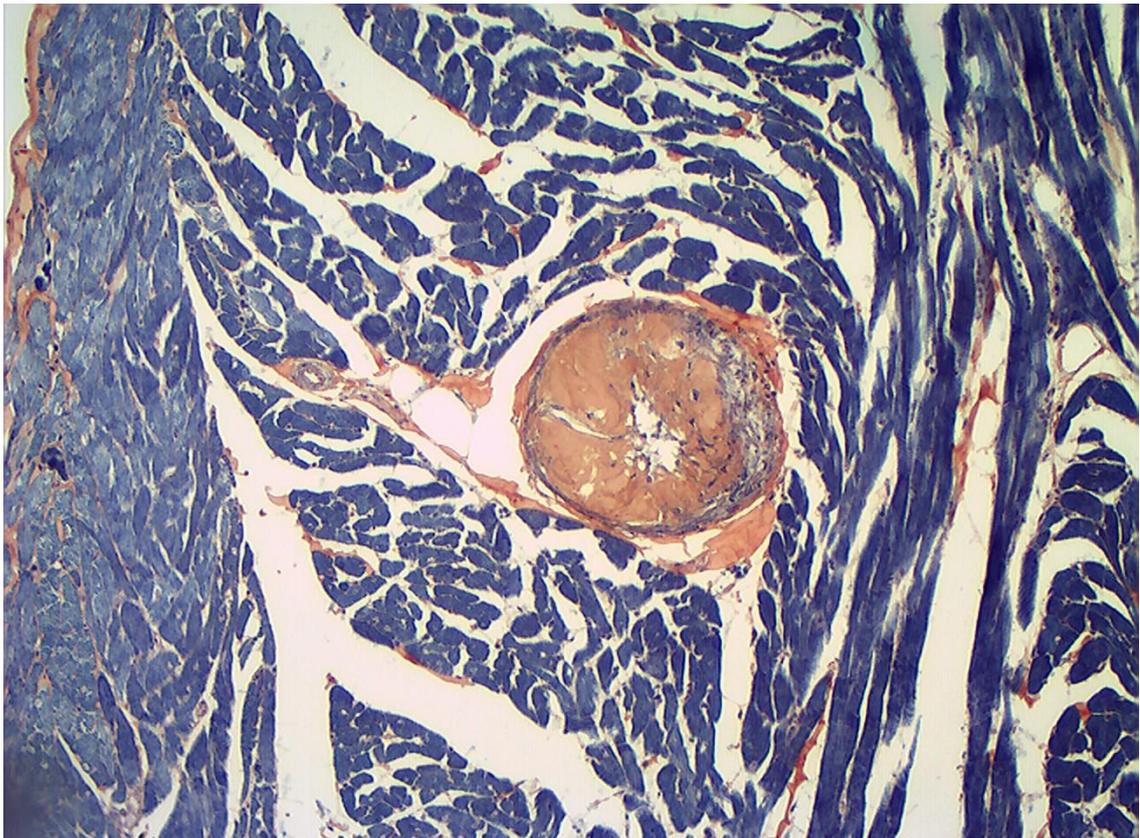
**Figura 20.** Espessamento da parede arteriolar por depósito de substância eosinofílica amorfa e redução do lúmen vascular. (Canino 4) Obj. 10x. H.E.



**Figura 21.** Substância amorfa na parede e no interior do vaso corada em marrom-alaranjado, com filamentos de fibrina corados em azul (Canino 4) Obj. 10x. H.A.F.T.



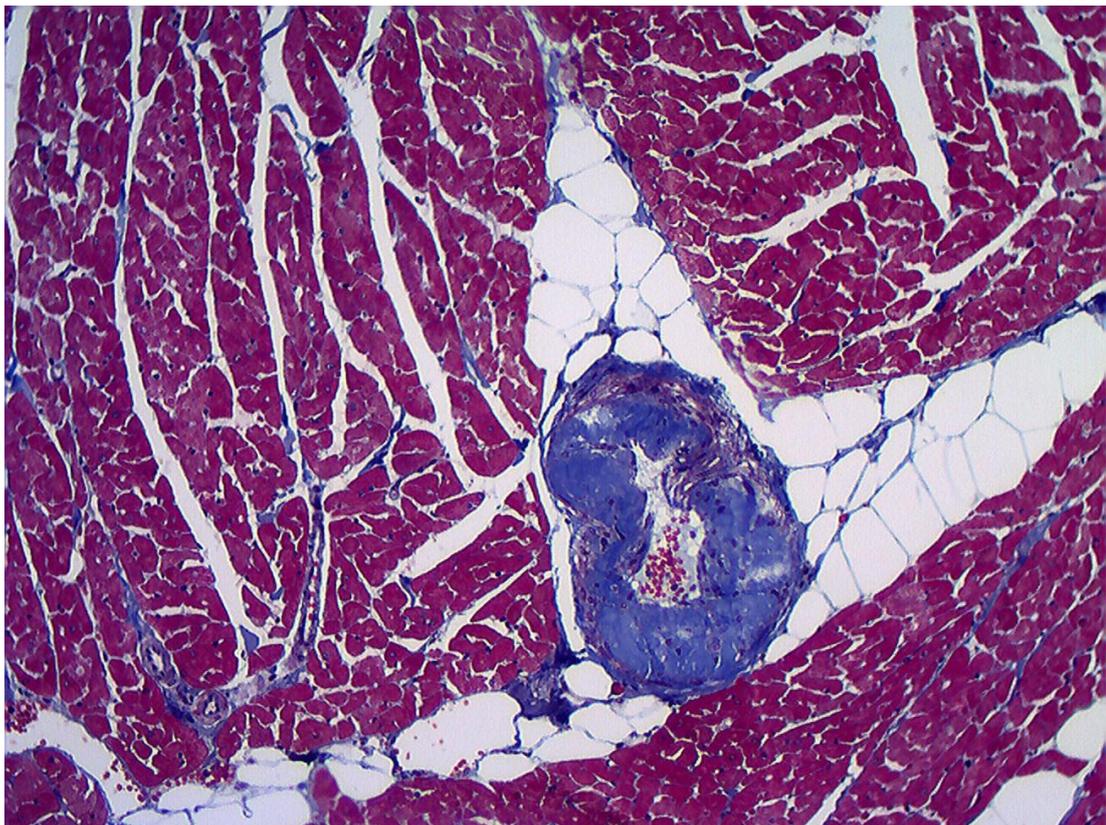
**Figura 22.** Deposição de material eosinofílico na parede arteriolar, com presença de filamentos de fibrina e redução do lúmen vascular. (Canino 2) Obj. 10x. H.E.



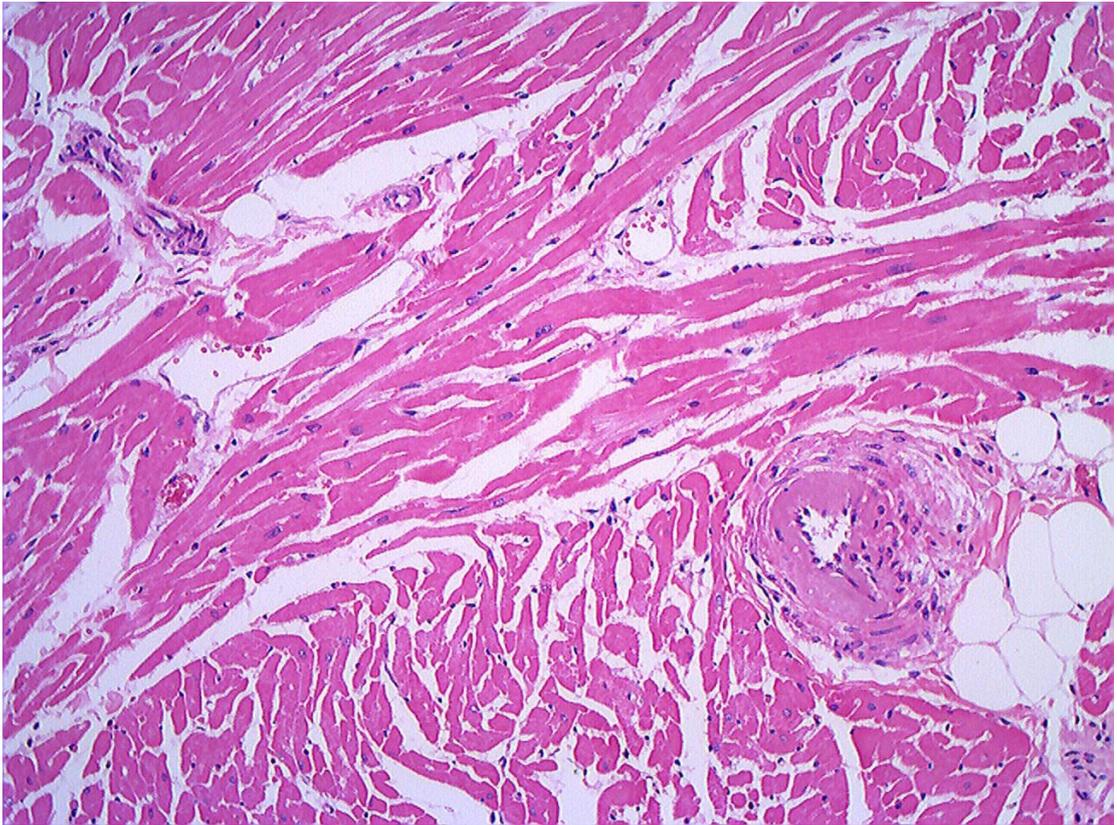
**Figura 23.** Substância amorfa marrom-alaranjada na parede e no interior do vaso, com filamentos de fibrina corados em azul (Canino 2) Obj. 10x. H.A.F.T.



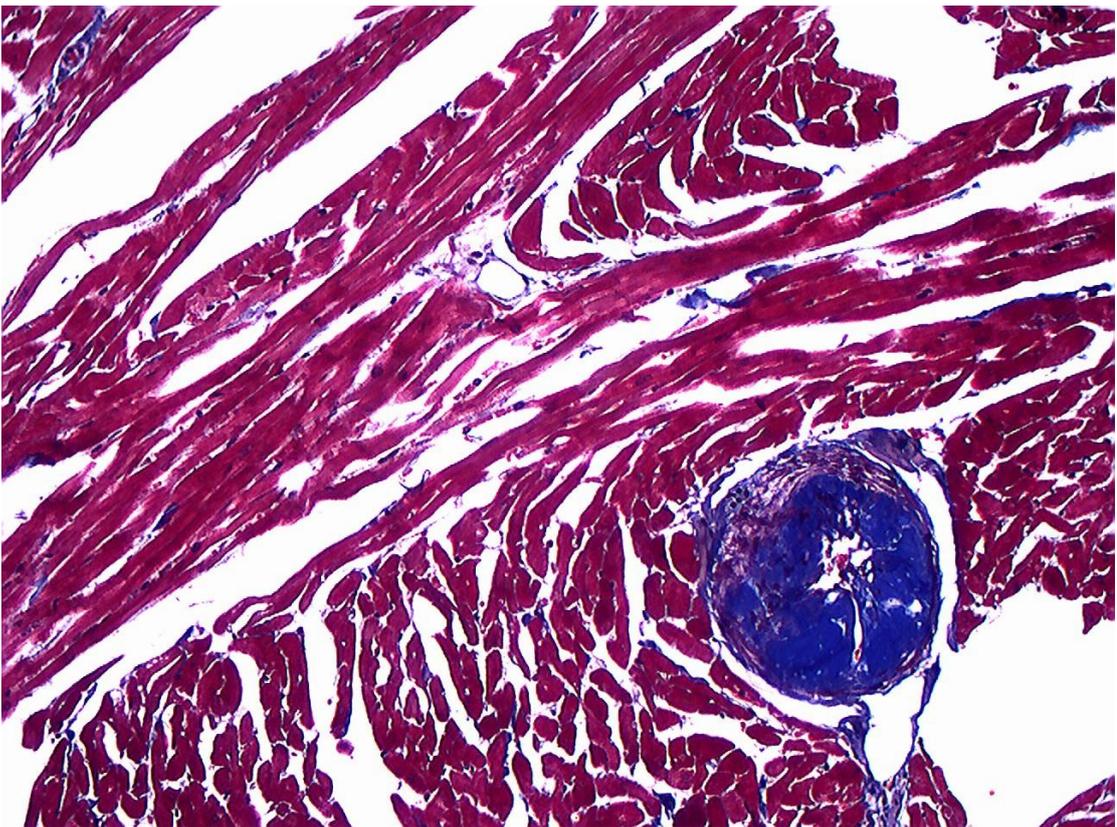
**Figura 24.** Depósito de substância amorfa e eosinofílica abaixo da íntima e da média (Canino 2) Obj. 10x. H.E.



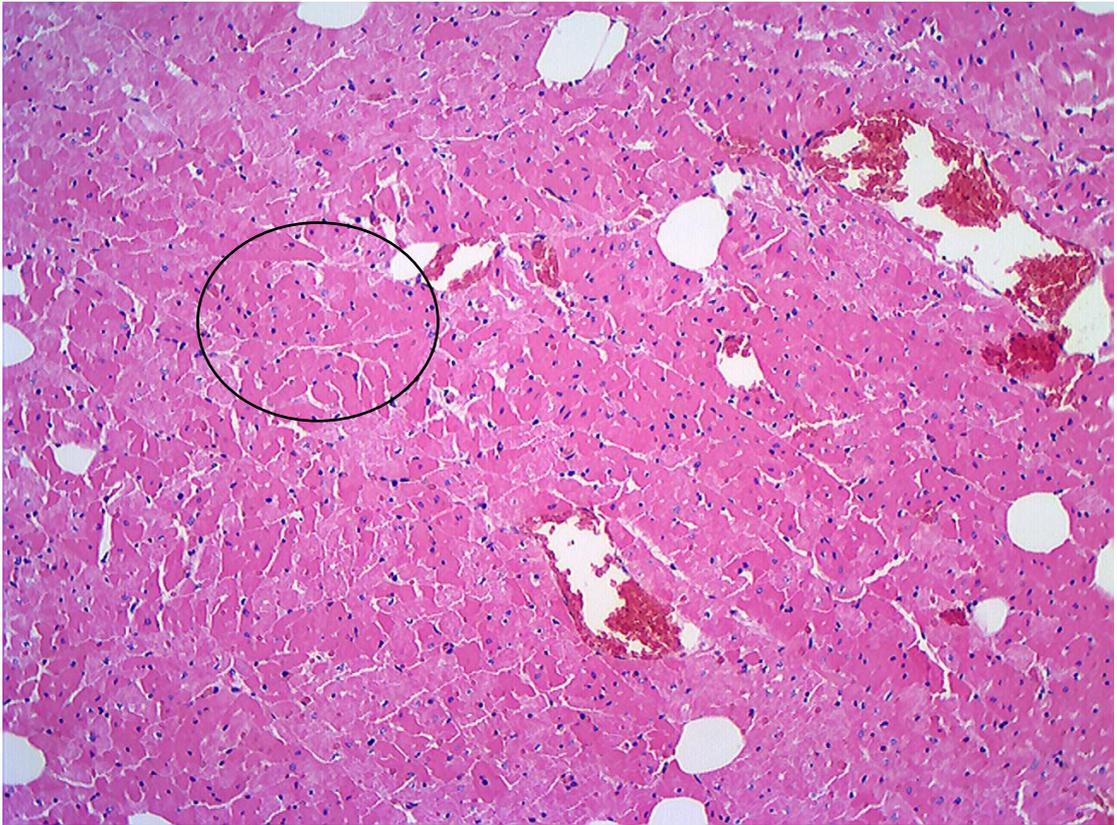
**Figura 25.** Substância amorfa da Figura 24 corada de azul pelo Tricrômico de Masson (Canino 2) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.



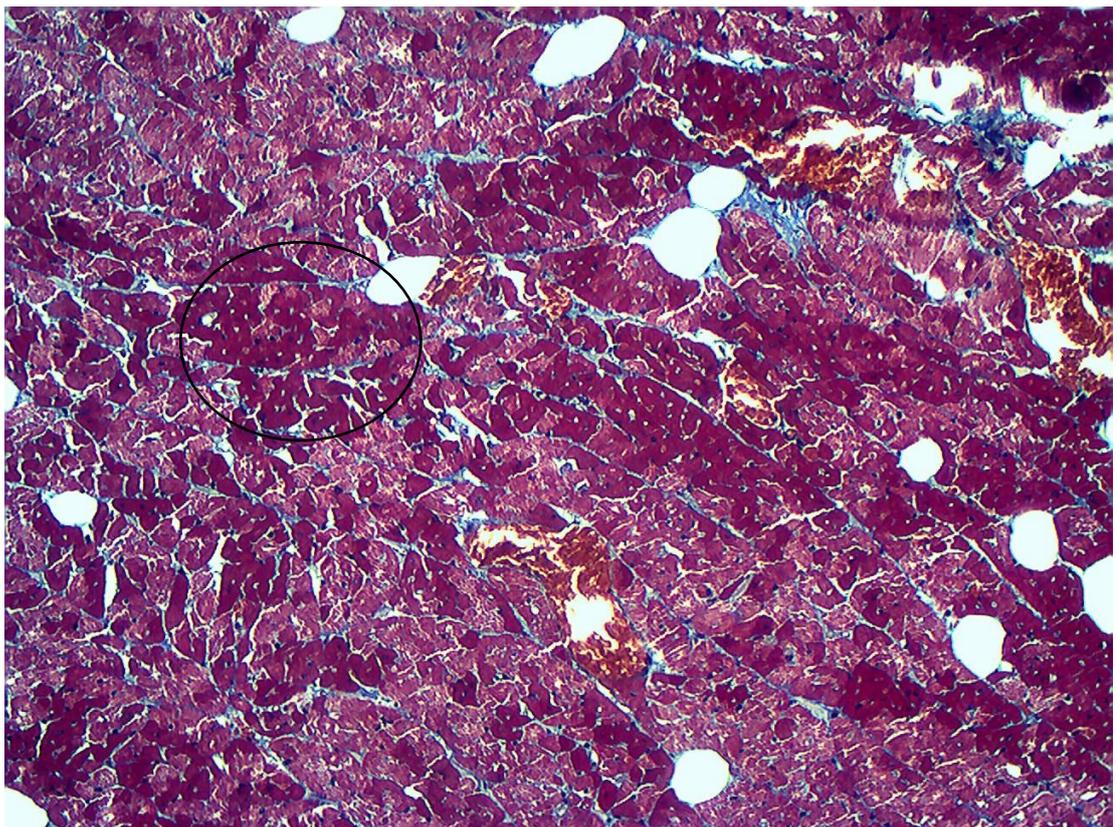
**Figura 26.** Depósito de substância amorfa e eosinofílica na parede arteriolar, com filamentos de fibrina e redução do lúmen vascular (Canino 2) Obj. 10x. H.E.



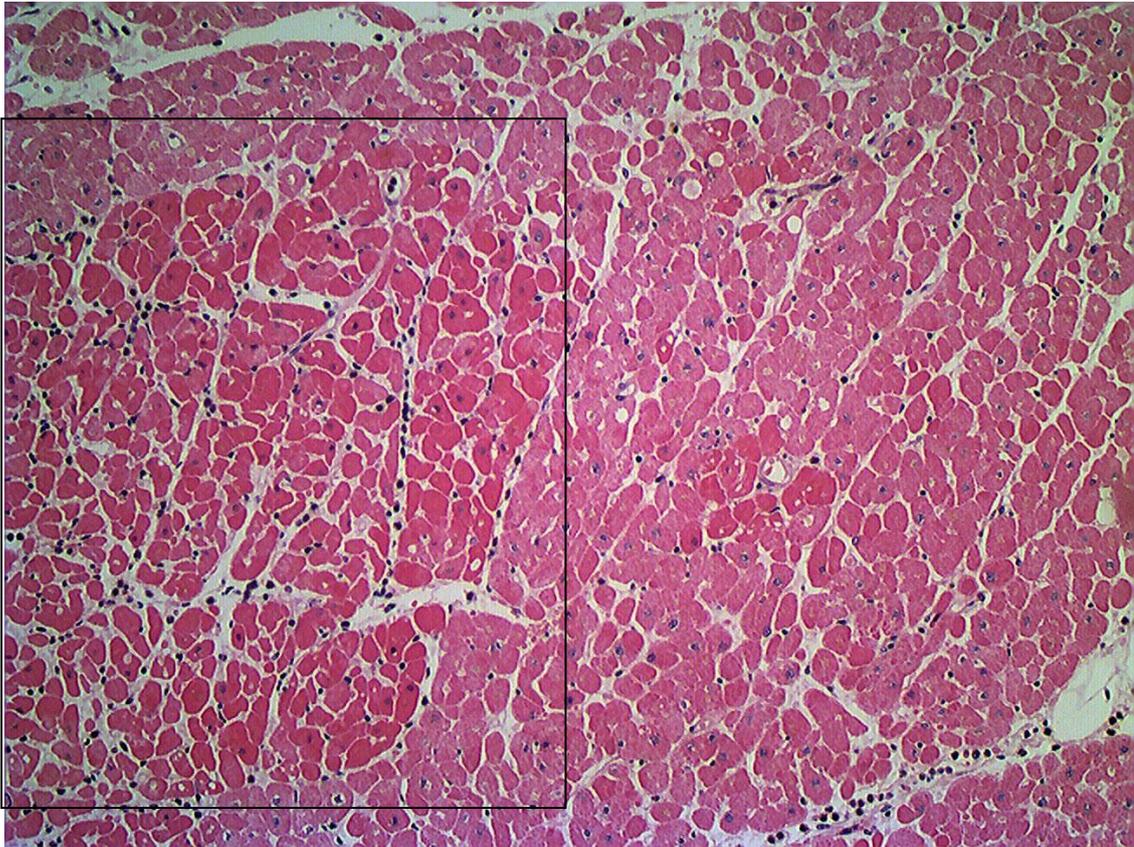
**Figura 27.** Substância amorfa da Figura 26 corada de azul pelo Tricrômico de Masson (Canino 2) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.



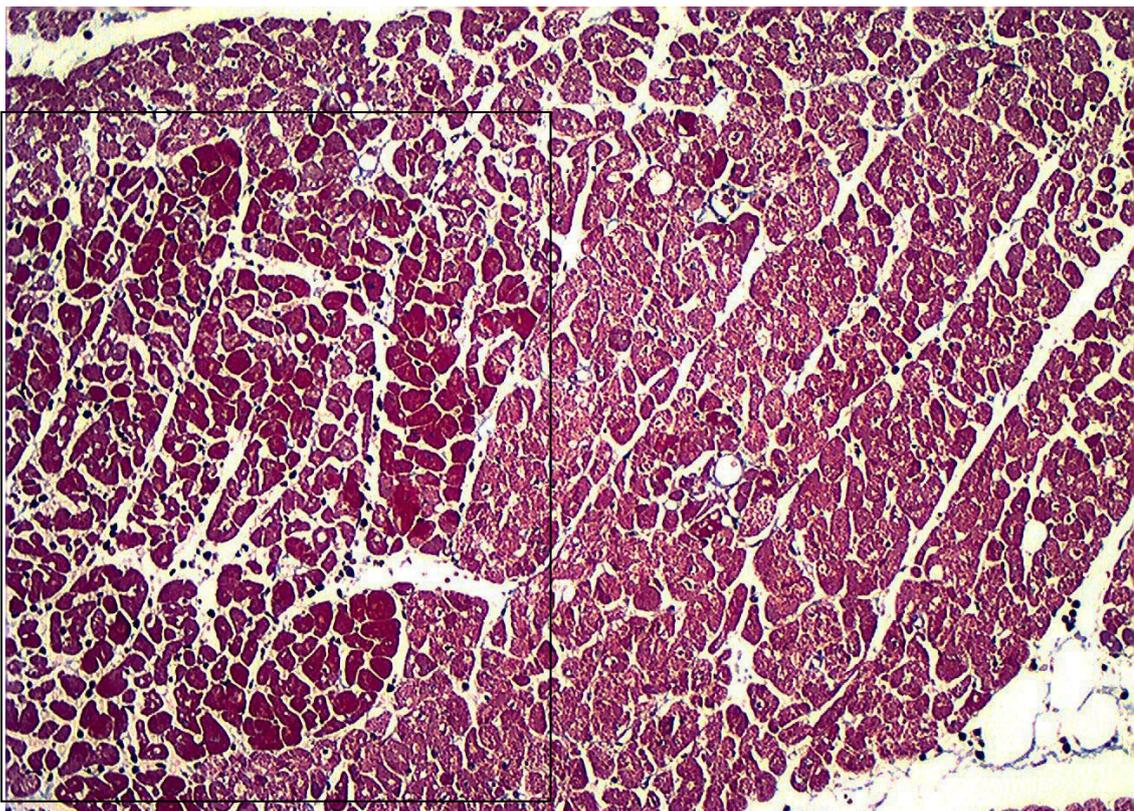
**Figura 28.** Parte dos cardiomiócitos hipereosinofílicos com eventual picnose (detalhe) (Canino 5) Obj. 10x. H.E.



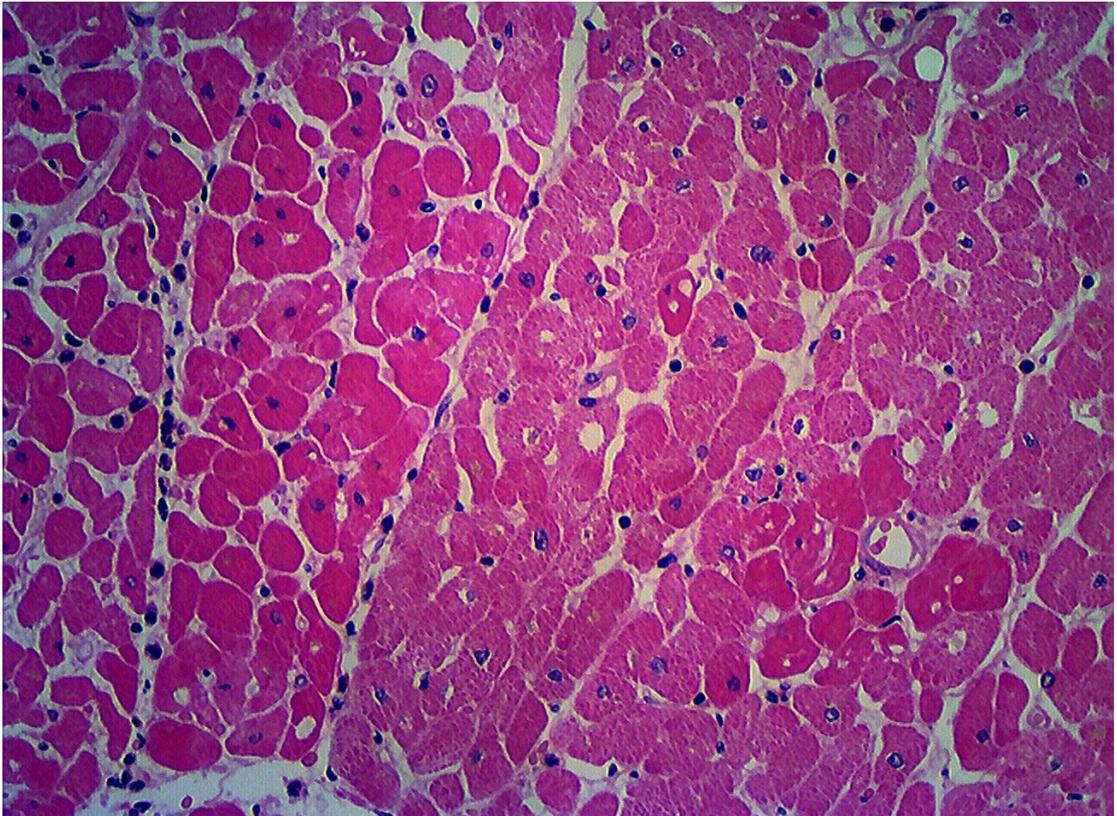
**Figura 29.** Os cardiomiócitos hipereosinofílicos visualizados na Figura 28 mostram-se hiperconrados (vermelho-arroxeados) pelo Tricrômico de Masson (detalhe) (Canino 5) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.



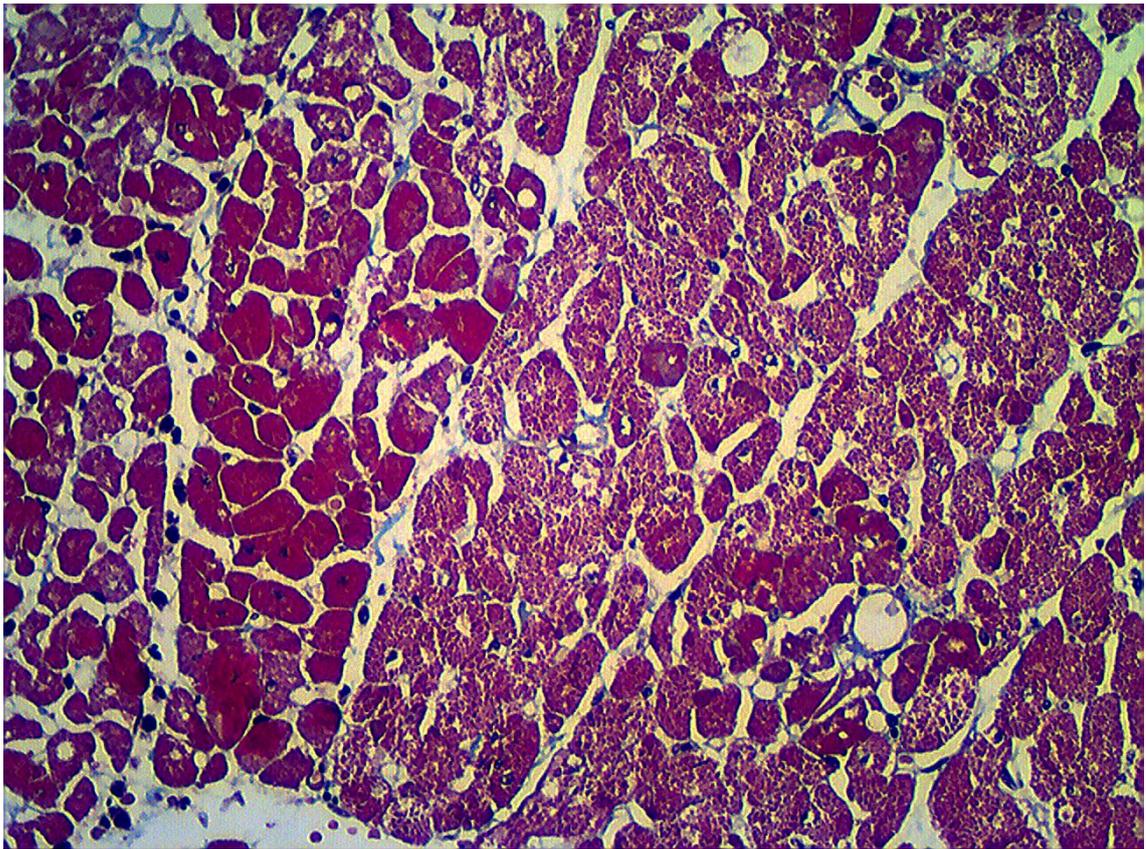
**Figura 30.** Cardiomiócitos com aumento da eosinofilia e eventual cariopcnose (detalhe) (Canino 15) Obj. 10x. H.E



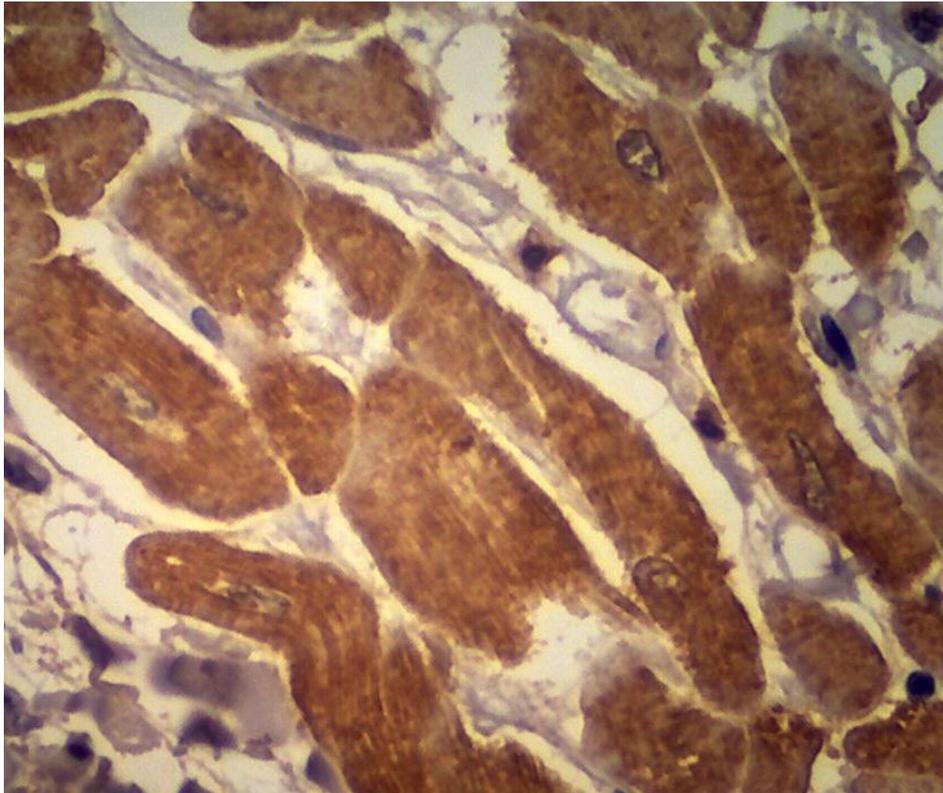
**Figura 31.** Grupo de cardiomiócitos hipereosinofílicos ao lado esquerdo da Figura 30 corado de vermelho-arroxeadado pelo Tricrômico de Masson (detalhe) (Canino 15) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.



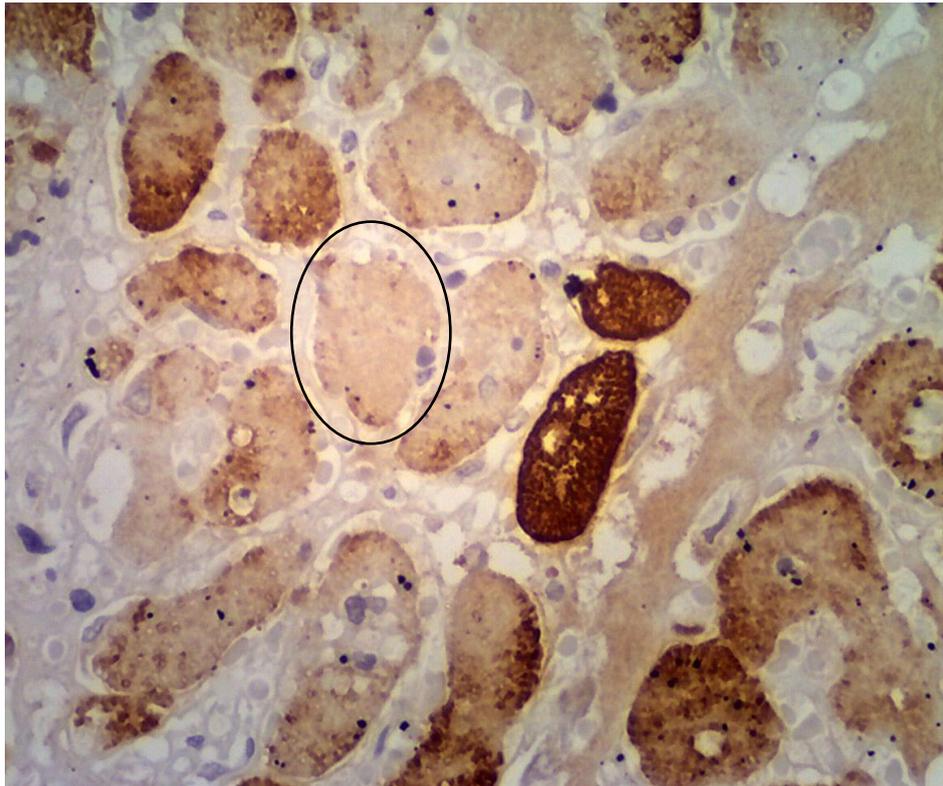
**Figura 32.** Cardiomiócitos hipereosinofílicos, com perda da estriação e eventual cariopícnose (Canino 15) Obj. 20x. H.E.



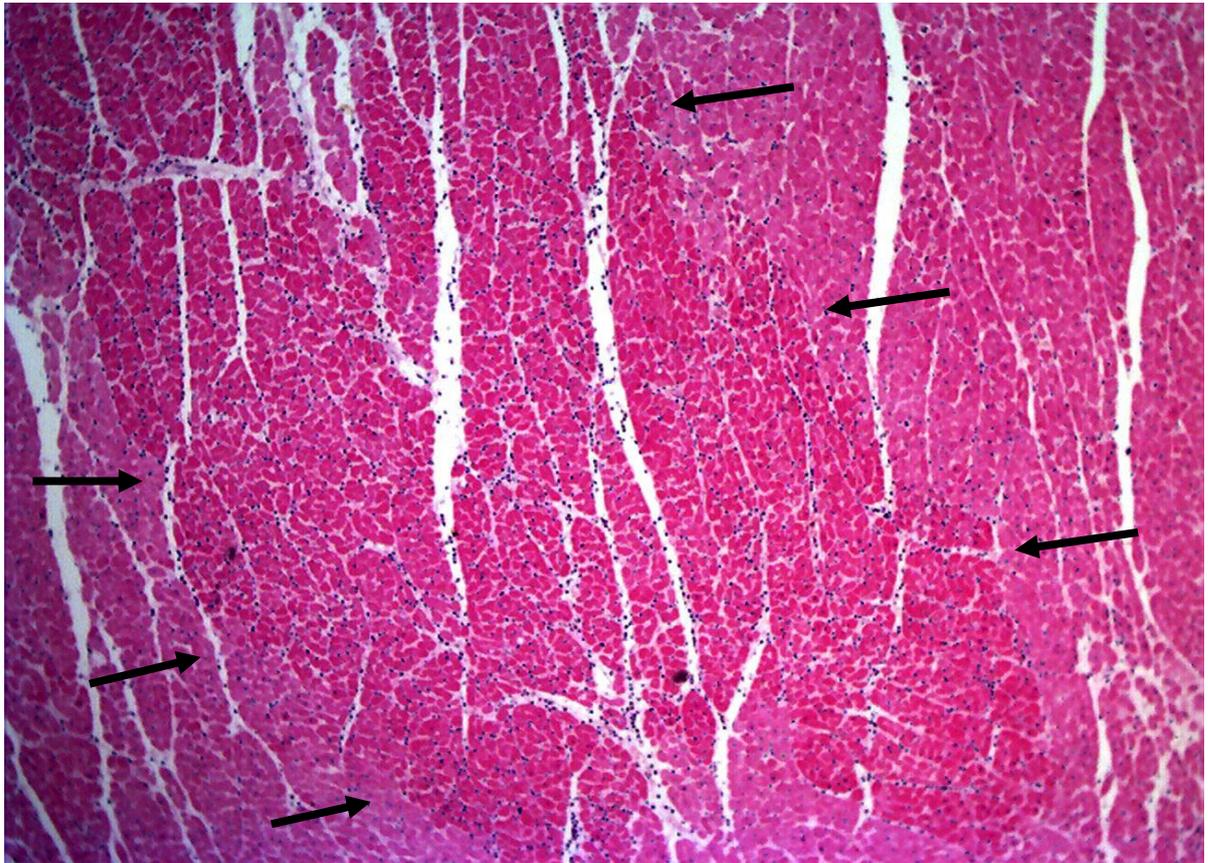
**Figura 33.** Cardiomiócitos hipereosinofílicos da Figura 32 corados de vermelho-arroxeadado pelo Tricrômico de Masson (Canino 15) Obj. 10x. Tricrômico de Masson.



**Figura 34.** Controle positivo da imunohistoquímica com anticorpo anti-cTnC. Acentuada marcação homogênea citoplasmática dos cardiomiócitos Obj. 40x



**Figura 35.** Controle negativo da imunohistoquímica com anticorpo anti-cTnC. Perda significativa da imunomarcação em miócitos necróticos (detalhe) Obj. 40x



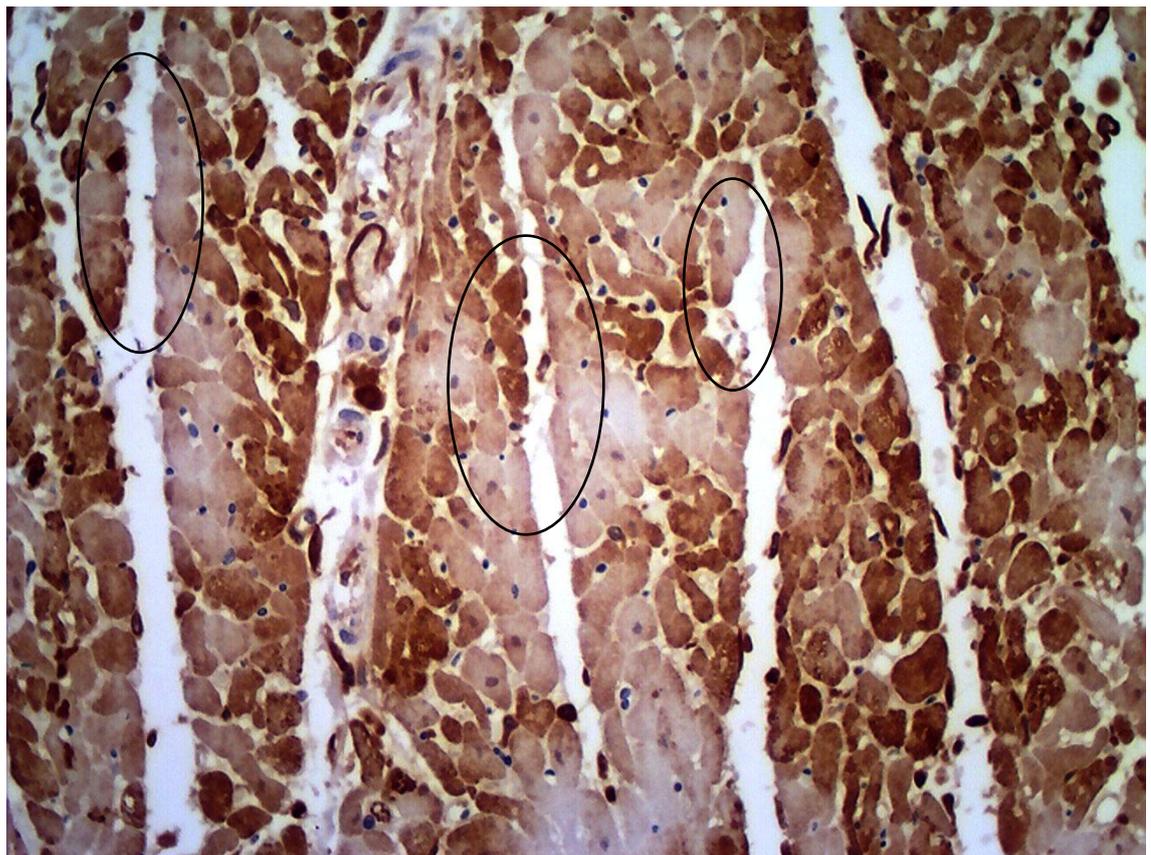
**Figura 36.** Grande área bem delimitada (setas) com cardiomiócitos hipereosinofílicos (Canino 15) Obj. 4x. H.E.



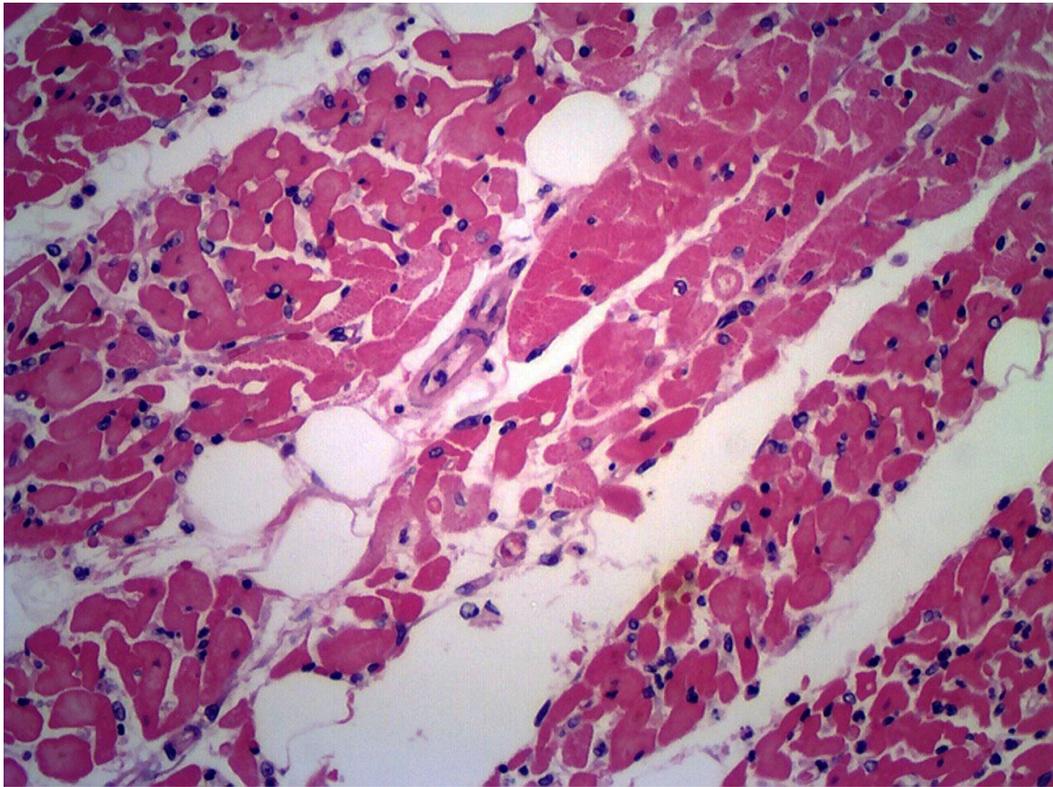
**Figura 37.** Diminuição da expressão para o anticorpo anti-cTnC em área extensa e bem delimitada (setas) (Canino 15) Obj. 4x



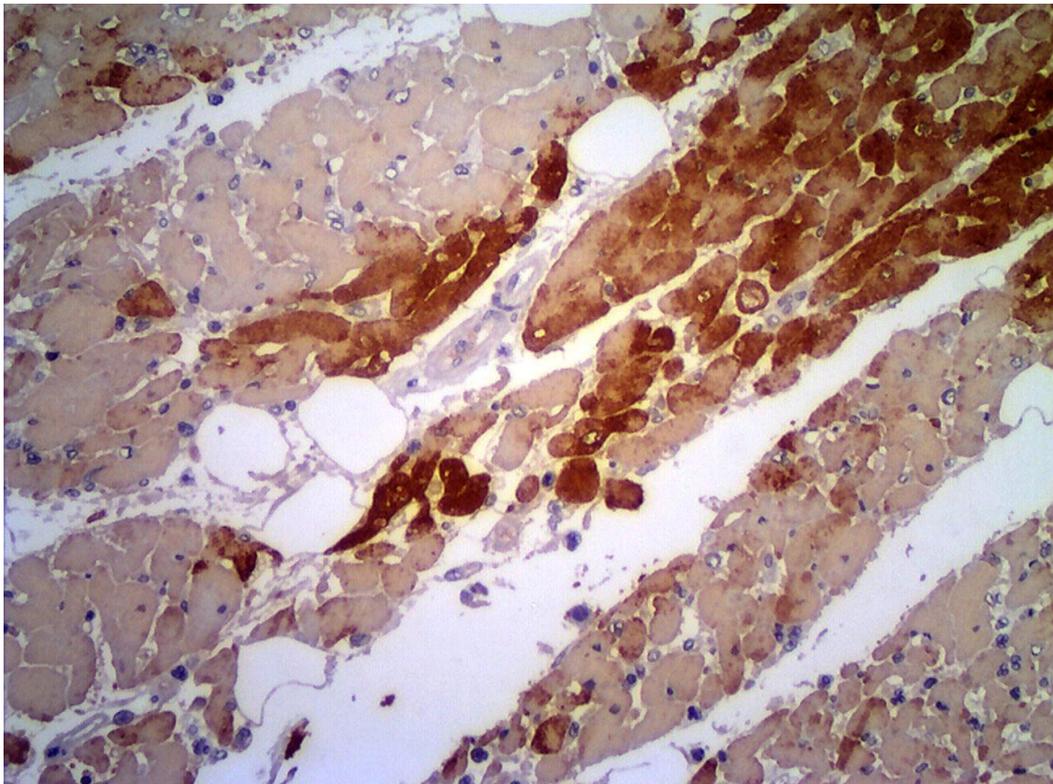
**Figura 38.** Extensas áreas com cardiomiócitos hipereosinofílicos e ausência de estriação (detalhes) (Canino 14) Obj. 20x. H.E.



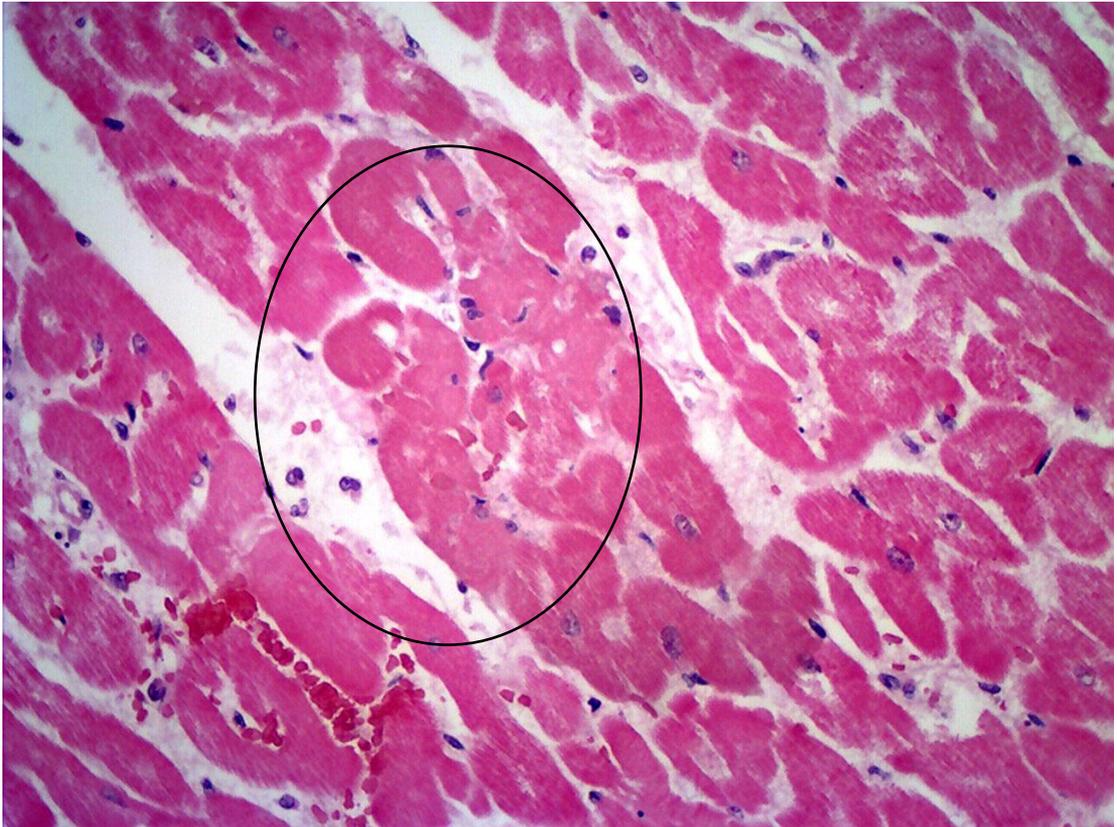
**Figura 39.** Diminuição da imunoreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns grupos de cardiomiócitos (detalhes) (Canino 14) Obj. 20x



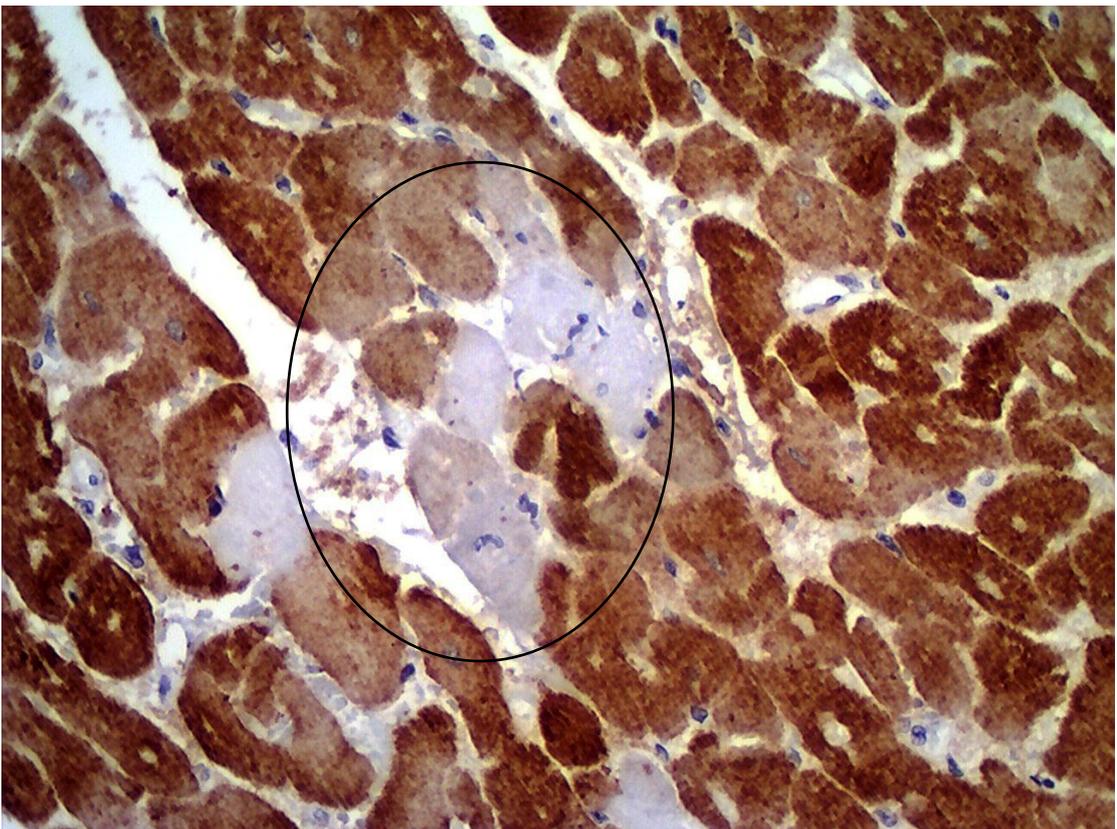
**Figura 40.** Aumento da eosinofilia e perda de estriação de alguns grupos de cardiomiócitos e leve edema entre as fibras (Canino 5) Obj. 20x. H.E.



**Figura 41.** Diminuição da imunoreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns grupos de cardiomiócitos (Canino 5) Obj. 20x



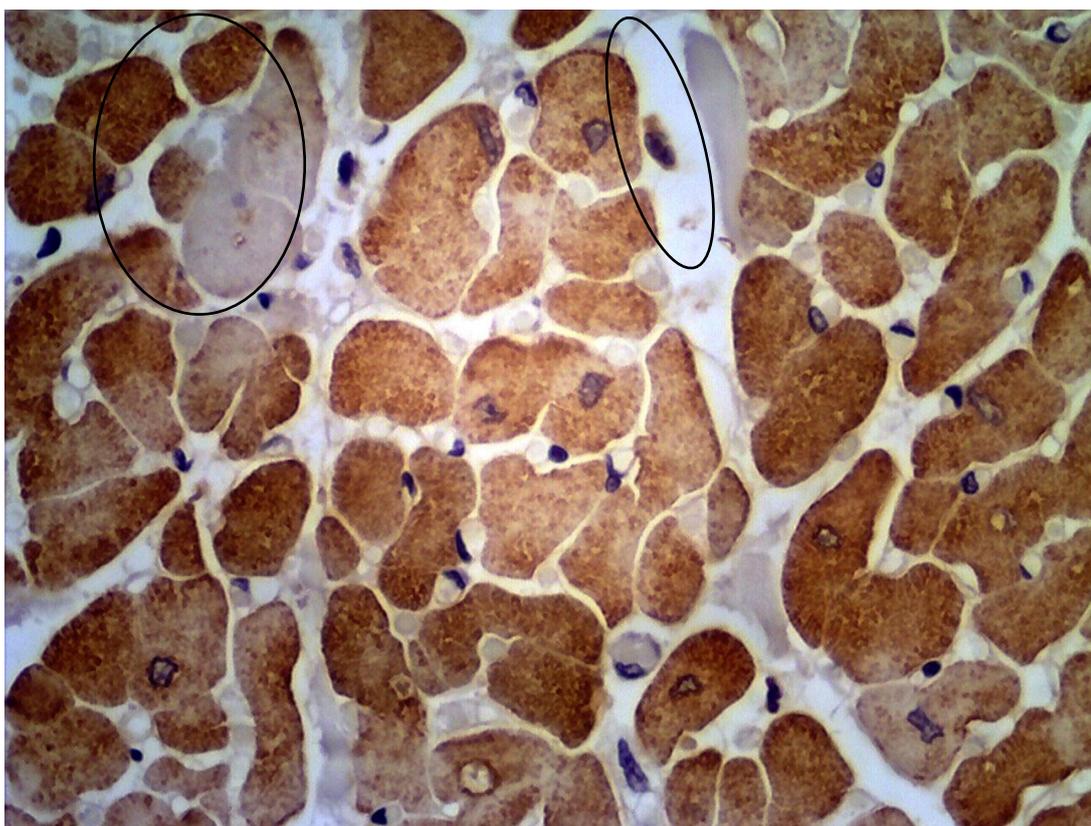
**Figura 42.** Cardiomiócitos hipereosinofílicos, fragmentados, sem núcleo (detalhe), leve edema entre as fibras (Canino 8) Obj. 40x. H.E.



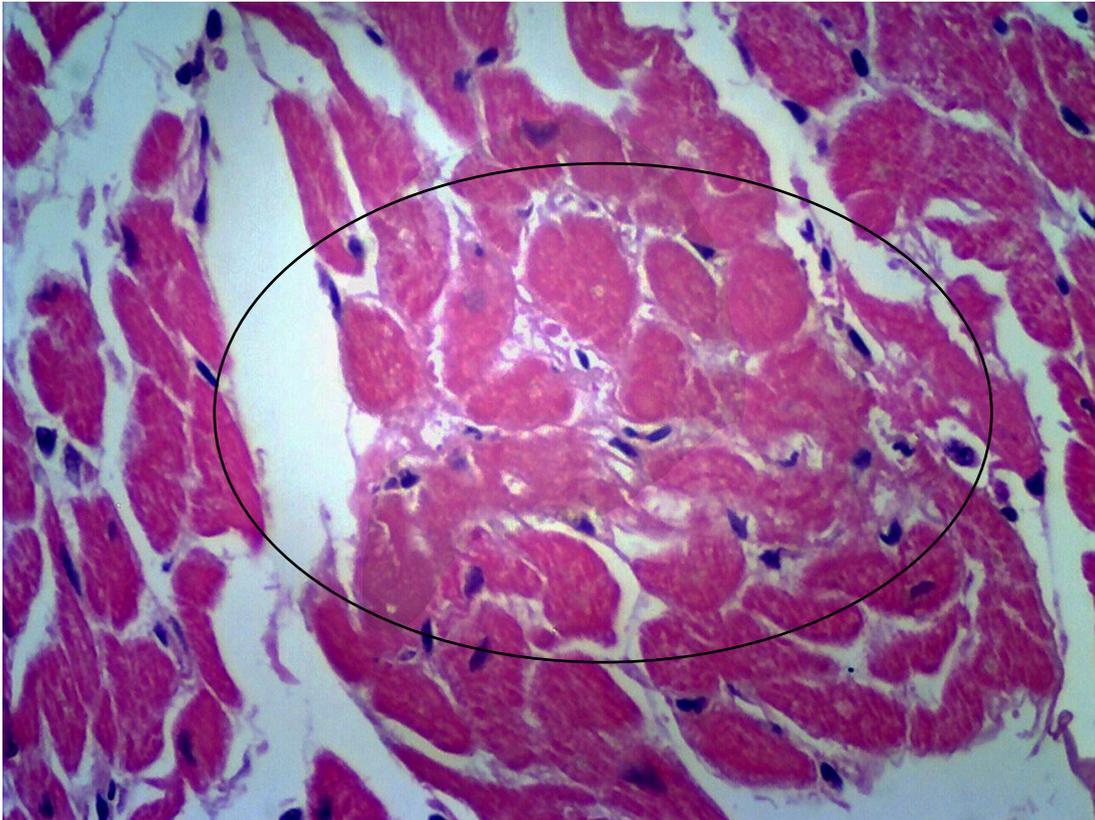
**Figura 43.** Diminuição ou ausência da imunorreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns cardiomiócitos (detalhe) (Canino 8) Obj. 40x



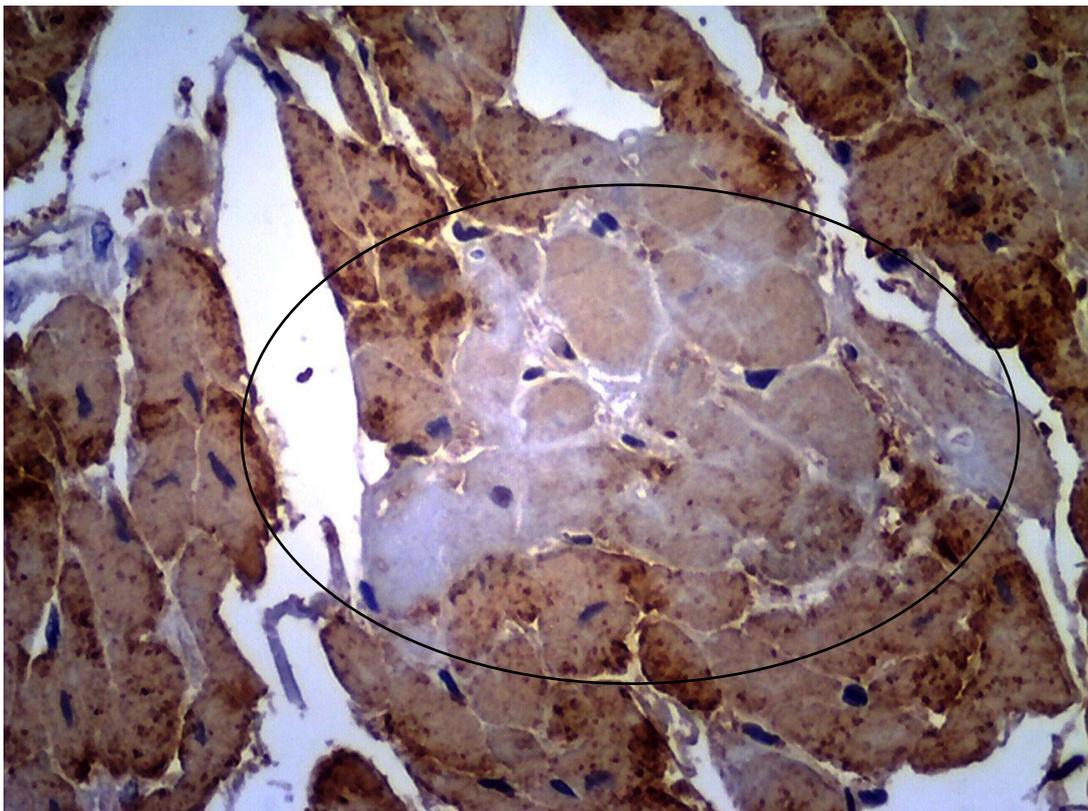
**Figura 44.** Hipereosinofilia, ausência de estriações e picnose de alguns cardiomiócitos (detalhes) (Canino 4) Obj. 40x. H.E.



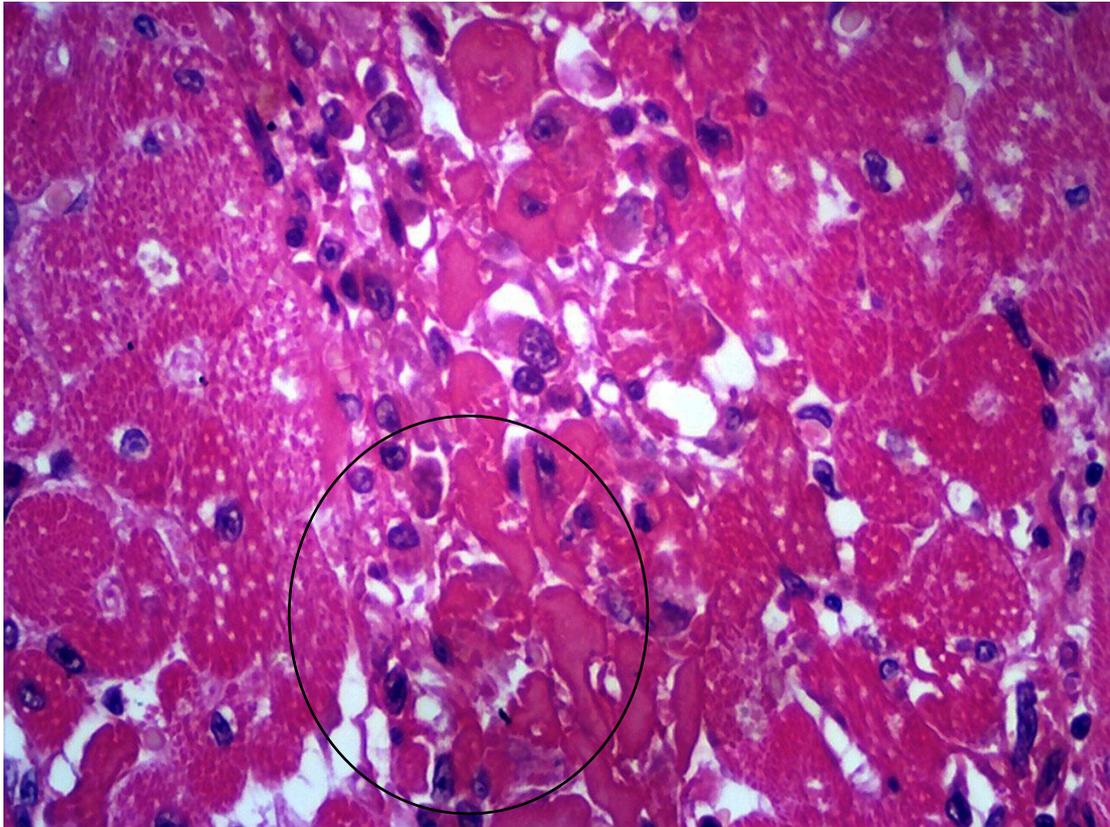
**Figura 45.** Acentuada diminuição da imunoreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns cardiomiócitos (detalhe) (Canino 4) Obj. 40x



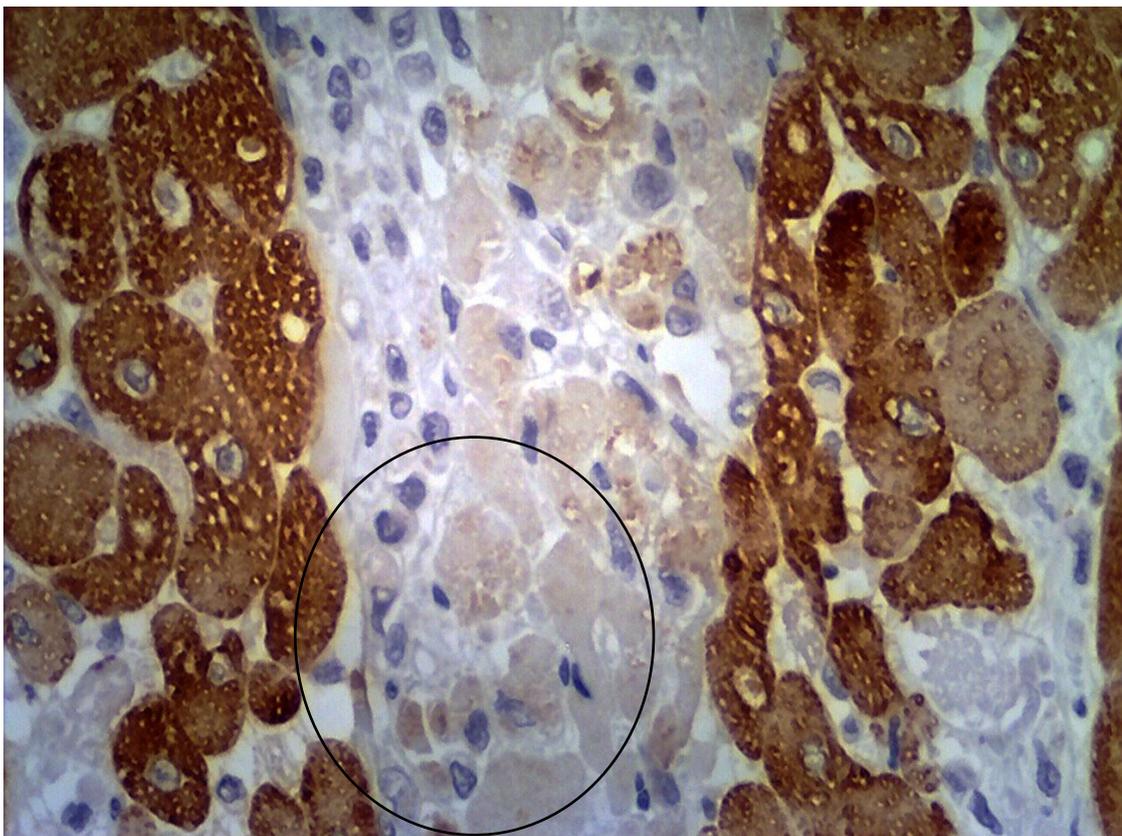
**Figura 46.** Grupo de cardiomiócitos com hipereosinofilia citoplasmática, ausência de núcleo, fragmentação celular (detalhe) e leve edema entre as fibras (Canino 9) Obj. 40x. H.E.



**Figura 47.** Acentuada diminuição da imunorreatividade para o anticorpo anti-cTnC em grupo bem delimitado de cardiomiócitos (detalhe) (Canino 9) Obj. 40x



**Figura 48.** Cardiomiócitos com citoplasma hipereosinofílico, ausência de estriações e de núcleo e inflamação histiocítica moderada (detalhe) (Canino 22) Obj. 40x. H.E.



**Figura 49.** Acentuada diminuição a perda total da imunoreatividade para o anticorpo anti-cTnC em alguns cardiomiócitos (detalhe) (Canino 22) Obj. 40x

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Imunohistoquímica

Através da avaliação imunohistológica do coração dos 22 caninos com doença renal, verificou-se redução dos níveis e até mesmo perda total de **expressão da troponina C cardíaca (cTnC)** no citoplasma de grupos de fibras musculares ou miócitos isolados. Diminuição significativa na imunorreatividade ocorreu, sobretudo, em cardiomiócitos que apresentavam, ao exame histopatológico, aumento da eosinofilia citoplasmática, perda das estriações e com infiltrado inflamatório associado, picnose/cariorrhexia e mineralização. Nos miócitos remanescentes e viáveis dos animais com lesão renal, bem como nos daqueles utilizados como controle negativo, observou-se marcada imunorreatividade para este anticorpo.

São escassos os trabalhos que relatam o uso da técnica de imunohistoquímica com anticorpo anti-troponina para detectar lesões cardíacas em animais. Recentemente, verificaram-se, através da imunohistoquímica com o anticorpo cTnC utilizado em humano, lesões degenerativo-necróticas no coração de *ovinos* intoxicados por *Amaranthus spinosus*, planta que causa *nefrose tóxica aguda/subaguda*; alguns animais apresentaram áreas de necrose bem evidentes na coloração H.E. e outros apenas um leve aumento da eosinofilia citoplasmática, porém em todos os casos houve algum nível de perda da expressão da cTnC na imunohistoquímica (COSTA et al., 2014). A técnica com o mesmo anticorpo foi utilizada em *bovinos* que morreram intoxicados por *Amorimia exotropa*, planta que afeta primariamente o coração e causa parada cardíaca (“morte súbita”) (PAVARINI et al., 2012; BANDINELLI et al., 2014). Nesses animais havia necrose coagulativa de grupos ou de fibras musculares isoladas e, na imunohistoquímica observou-se sensibilidade desse anticorpo para detecção das lesões cardíacas. Em *bovinos e ovinos* intoxicados por monofluoroacetato de sódio (SANTOS et al., 2014), os resultados da avaliação imunohistoquímica foram similares aos encontrados em bovinos intoxicados por *Amorimia exotropa* (PAVARINI et al., 2012; BANDINELLI et al., 2014). No miocárdio de *cães* com *Dirofilaria immitis* focos de cardiomiócitos hipereosinofílicos, necrose de coagulação e inflamação neutrofílica apresentaram variação de sutil a leve no padrão de marcação de algumas fibras, com parte delas demonstrando perda total da troponina I (CARRETÓN et al., 2012).

Nos cães deste estudo, as lesões cardíacas foram secundárias à doença renal crônica, entretanto, o resultado do exame imunohistoquímico apresentou um padrão semelhante às alterações observadas naqueles animais que, em estudos anteriores, apresentaram lesão

cardíaca primária aguda e/ou subaguda (PAVARINI et al., 2012; BANDINELLI et al., 2014; SANTOS et al., 2014), dirofilariose (CARRETÓN et al., 2012) e nefrose tóxica aguda/subaguda (COSTA et al., 2014).

## 5.2 Histopatologia

Em todos os fragmentos de corações examinados microscopicamente havia algum grau de lesão vascular e/ou miocárdica (22/22), que variou de leve a marcada. Em um trabalho com 72 cães que apresentavam lesões extra-renais de uremia, observaram-se alteração vascular associada à necrose miocárdica e mineralização em 13 animais, portanto apenas 18% (DANTAS; KOMMERS, 1997). Embora a degeneração arterial que ocorre em pacientes urêmicos seja descrito como mais frequente em pequenas artérias musculares e arteríolas da camada submucosa do estômago e língua e menos comum em artérias do miocárdio (MAXIE; ROBINSON, 2007), a **arteriopatia degenerativa/necrótica** com necrose e mineralização esteve presente no coração de 11/22 (50%) dos cães deste estudo, ou seja, foi observada com maior frequência do que vem sendo descrito na literatura. Em boa parte dos cães com lesão vascular (7/11) foi possível identificar uma **substância amorfa e eosinofílica** depositada na parede dos vasos. Esse padrão microscópico de lesão pode ser verificado em casos de degeneração hialina, necrose fibrinóide e amiloidose vascular (VLEET; FERRANS, 2009).

Diversos mecanismos vasculares são desencadeados quando há lesão endotelial e, dentre estes, podemos citar o aumento da expressão de endotelina-1, um peptídeo vasoativo produzido por células endoteliais e mesenquimais (ABRAHAM; DISTLER, 2007). Essa substância estimula a transcrição e modificação de genes que controlam a composição da matriz extracelular, entre eles genes que codificam a produção de colágeno (ABRAHAM; DISTLER, 2007) e atuam diretamente na produção deste pela musculatura lisa vascular (RIZVI et al., 1996). A endotelina-1 então pode exercer um papel importante na remodelação vascular e deposição de matriz extracelular após lesão devido ao aumento da síntese de proteínas extracelulares e proliferação celular (RIZVI et al., 1996). A necrose fibrinóide observada em cães urêmicos, entretanto é caracterizada pela ruptura da lâmina interna elástica, necrose do músculo liso da camada média, mineralização e, algumas vezes, inflamação neutrofílica com deposição subendotelial de fibrina (MAXIE; ROBINSON, 2007; VLEET; FERRANS, 2009) e fibrinogênio - identificados com o uso de técnicas histoquímicas e de imunofluorescência (ORDÓÑEZ; ROSAI, 2004). Nos cães desse estudo utilizaram-se o Tricrômico de Masson e Hematoxilina Ácida-Fosfotungstica para identificar o material

depositado na parede vascular, que se corou em azul e vermelho arroxeado, respectivamente (compatível com colágeno). Esse achado é diferente dos resultados obtidos por Ordóñez & Rosai, 2004, que observaram, na camada média dos vasos, deposição de fibrina em casos de necrose fibrinóide. Por outro lado, deve-se considerar a hipótese de essa substância amorfa tratar-se de musculatura lisa necrosada que também se cora de azul pelo Tricrômico de Masson (OUYANG et al., 2010). Com a coloração Hematoxilina Ácida- Fosfotungstica, alguns filamentos de fibrina também foram evidenciados. São necessários mais estudos acerca da identificação desse material acumulado na parede vascular e realização de outras técnicas histoquímicas para melhor caracterização da composição da mesma, que parece complexa.

Tudo indica que a uremia foi a principal causa das lesões vasculares encontradas no coração, entretanto, não se pode descartar que outros mecanismos comuns em pacientes urêmicos, como o estresse oxidativo (HIMMELFARB et al., 2004) e a hiper-homocisteinemia (GULDENER, 2006), tenham participado na gênese das alterações vasculares, uma vez que podem ocasionar lesões marcadas em vasos sanguíneos (MCCULLY, 1969; LOCATELLI et al., 2003).

Em 11/22 caninos não foram encontradas lesões vasculares no coração que pudessem estar associadas à necrose coagulativa de miofibras. Nesse caso, a alteração pode não ter sido observada devido ao número limitado de fragmentos cardíacos examinados (CARRETÓN et al., 2012) ou, ainda, existe a possibilidade da necrose ter ocorrido por outros fatores, aquém da lesão vascular, como o aumento nos níveis séricos de diversas citocinas que ocorrem após a lesão renal, como TNF- $\alpha$  e IL-1 (KELLY et al., 1996) que, associado à ampliação da atividade da mieloperoxidase e à ativação do SNS através do estímulo de nervos sensitivos aferentes, podem levar à apoptose de células musculares (CONVERSE et al., 1992; KELLY, 2003). Adicionalmente, ocorre ativação exacerbada do SRAA, que contribui para liberação de angiotensina II (BAGSHAW et al., 2013) e pode induzir à morte celular programada em miócitos dos ventrículos (KAJSTURA et al., 1997).

A endocardiose valvular foi observada em metade dos cães (11/22); trata-se de uma alteração degenerativa importante que acomete animais de idade média à avançada e pode causar insuficiência cardíaca congestiva. Frequentemente leva a alterações miocárdicas como arteriosclerose, além de necrose e fibrose miocárdicas multifocais (VLEET; FERRANS, 2009). É possível que nesses animais a disfunção valvular tenha contribuído para as alterações cardíacas encontradas. Por outro lado, temos necropsiado com frequência animais com endocardiose e não verificamos lesões cardíacas deste tipo.

No canino 5, o Tricrômico de Masson evidenciou fibras com **necrose incipiente** (apenas com hipereosinofilia citoplasmática), tornando-as mais perceptíveis do que pela coloração rotineira pela hematoxilina e eosina. A utilização do Tricrômico de Masson pode ser útil nesses casos, o citoplasma torna-se vermelho-arroxeadado, mais escuro que o vermelho normal para essa coloração específica (OUYANG et al., 2010; BURKE; TAVORA, 2010), já que alterações incipientes sem infiltração inflamatória nos miócitos cardíacos pode ser difícil pela coloração rotineira, pois estas são muito sutis (OUYANG et al., 2010).

A **mineralização** observada nos cardiomiócitos dos cães deste estudo (5/22) foi do tipo distrófica, ou seja, ocorre quando há deposição de minerais em tecidos submetidos a qualquer tipo de lesão necrótica, degenerativa ou inflamatória (JONES; HUNT; KING,2000; ALFREY, 2004).

**Fibrose intersticial** miocárdica e/ou perivascular foi vista em 9 cães deste estudo (9/22). Em pacientes com disfunção renal essa alteração ocorre de forma secundária ao desequilíbrio na homeostase do fluido (BAGSHAW et al., 2013). A sobrecarga de volume que ocorre nessa condição contribui para elevação da pré-carga, alterações no débito cardíaco e aumento da pós-carga, assim como ativação do SNS e SRAA. Esses mecanismos podem levar ao desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica (BAGSHAW et al., 2013) e a angiotensina II pode induzir fibrose cardíaca (KAWANO et al., 2000). Em pacientes com quadro de uremia, a fibrose intersticial e/ou perivascular também pode ser atribuída ao processo arterioesclerótico (LANGENDORF; PIRANI, 1947). Como os animais desse estudo são pacientes com doença renal crônica e apresentam quadro de uremia, esses fatores devem ser considerados como causa da fibrose cardíaca encontrada.

### 5.3 Síndrome Cardiorrenal

A **Síndrome Cardiorrenal** atualmente é muito estudada na Medicina e há evidências da relação direta e estreita entre grau de disfunção renal e risco cardiovascular (MARTIN; FRANCO, 2005). Neste estudo, acredita-se que os animais desenvolveram a síndrome cardiorrenal **tipo 4**, em que as lesões cardíacas são secundárias à doença renal crônica. Diversos fatores de risco têm papel na patogênese da doença cardiovascular nos nefropatas crônicos, dentre eles hipertensão arterial (LONGENECKER et al., 2002), hipervolemia (AMANN et al., 1998) e anemia (LEVEY et al., 1998).

A hipervolemia pode levar ao edema pulmonar (RONCO et al., 2008), alteração observada macroscopicamente em 12 cães (12/22), então é provável que esses animais tenham

apresentado desequilíbrio na homeostase hídrica. Em nove animais (9/22) verificou-se anemia, que pode ser consequência da doença renal crônica (McCLELLAN et al., 2004) e pode levar a deficiência na oxigenação do miocárdio, que tem o consumo de oxigênio aumentado nesses pacientes (CAPELLI; KASPARIAN, 1977). É possível que a deficiência de eritropoetina, o aumento na produção de inibidores da eritropoese induzidos pela uremia e desordem na homeostase do ferro (BABITT; LIN, 2012) sejam fatores que podem levar à anemia nesses casos.

Em cinco cães deste trabalho (5/22) a **hipertrofia ventricular esquerda** foi identificada ao exame macroscópico. A prevalência dessa alteração na musculatura cardíaca é maior em nefropatas e progride de acordo com a evolução da doença renal (LEVIN et al., 1996). Vários mecanismos concorrem para a sobrecarga do trabalho cardíaco, que leva ao crescimento ventricular desproporcional: hipervolemia (aumenta a pré-carga), aumento da resistência vascular periférica (eleva pós carga) (AMANN et al., 1998), hipertensão arterial (TUCKER et al., 1997; CANNELLA et al., 2000; SANTOS et al., 2002) e anemia (isquemia relativa nos tecidos) (LEVIN et al., 1996). Além disso, os rins em falência podem aumentar a atividade do Sistema Nervoso Simpático (SNS), através de estímulos de nervos sensitivos aferentes (CONVERSE et al., 1992), agravando a hipertensão (RUMP et al., 2000). A liberação excessiva de angiotensina II induz também à hipertrofia cardíaca (KIM; IWAO, 2011) e isso ocorre pela ativação exacerbada do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA), (BAGSHAW et al., 2013).

#### 5.4 Bioquímica

A **creatinina** é a substância mais utilizada para avaliação bioquímica da filtração glomerular, já que a depuração renal dessa substância é praticamente igual a taxa de filtração glomerular (JUNIOR; WILLIAMS, 2010). Dezoito caninos apresentaram elevados níveis de creatinina (sempre em relação aos níveis de referência do laboratório), o que indica diminuição da capacidade filtrativa do rim desses animais.

Em todos os cães cuja **ureia** foi dosada, os níveis séricos encontraram-se elevados (19/19). Esta substância é considerada um parâmetro acessível e útil da excreção renal, pois a urina é a sua principal via de excreção (AIRES, 2008a). As lesões extra-renais da **uremia** foram observadas em 13 caninos deste estudo (13/22) e alterações nos sistemas gastrointestinal, cardiovascular, respiratório e esquelético são características do quadro urêmico (DANTAS; KOMMERS, 1997; CONFER; PANCIERA, 1998; MAXIE; NEWMAN, 2007). Alguns cães

(4/22) apresentaram halitose urêmica, com odor amoniacal exalado no hálito ou da mucosa gástrica. Este odor origina-se da degradação da ureia em amônia por ação da urease bacteriana (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005). Manifestações gastrintestinais como vômito e diarreia, foram observadas em 3/22 cães (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005) e os sinais clínicos nessa espécie estão diretamente relacionados com as lesões urêmicas no trato gastrintestinal, nas formas de gastropatia e enteropatia urêmicas. O efeito de toxinas urêmicas ainda não identificadas sobre a zona desencadeadora de quimiorreceptores no bulbo também tem sido descrito como mecanismo patogénico para o vômito, náusea e anorexia (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005).

Oito cães apresentaram níveis séricos elevados de potássio. Alguns autores acreditam que a **hipercalemia** possa exercer um papel na patogênese das alterações regressivas observadas no coração de animais com insuficiência renal (TAKKEN; CONNOR, 1985; PEIXOTO et al., 2003; COSTA et al., 2014), que não apresentam lesão vascular. Quatro cães deste estudo que tinham hipercalemia apresentaram concomitante lesão vascular, que mais provavelmente estava associada à uremia.

Em 3 caninos observou-se **densidade urinária** reduzida, possivelmente, devido à perda progressiva da função renal, que diminui a capacidade do órgão de concentrar a urina (JUNIOR; WILLIAMS, 2010), o que indica um rim em estágio terminal.

## 6 CONCLUSÕES

- A lesão nos vasos do coração dos cães deste estudo pode ser atribuída à uremia de longa duração e /ou às alterações hemodinâmicas e metabólicas que ocorrem na Síndrome Cardiorrenal tipo 4
- A alteração em vasos cardíacos em cães nefropatas crônicos com uremia pode ser mais freqüente do que cita a literatura
- A lesão em cardiomiócitos é mais freqüente em animais nefropatas crônicos do que mencionado na literatura
- Há diminuição da expressão de troponina C nos cardiomiócitos de cães com insuficiência renal crônica
- A avaliação imunohistoquímica com o anticorpo anti-troponina C é uma importante ferramenta na detecção da real extensão das lesões em cardiomiócitos
- A imunohistoquímica com a utilização do anticorpo anti-TnC é mais sensível que a coloração pela hematoxilina e eosina na identificação de lesão miocárdica, sobretudo precoce em cães
- O anticorpo anti-TnC utilizado para humanos podem ser aplicado em estudos com cães

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. Effector Mechanisms of Humoral Immunity. In: ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; **Cellular and Molecular Immunology**. 8ª ed. Philadelphia. Elsevier, cap. 13, p. 265-288, 2014.

ABRAHAM, D.; DISTLER, O. How does endothelial cell injury start? The role of endothelin in systemic sclerosis. **Arthritis Research & Therapy**, v.9, supp.2, p.1-8, 2007.

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

AGGARWAL, R.; LEBIEDZ-ODROBINA, O.; SINHA, A.; MANADAN, A.; CASE, J.P. **The Journal of Rheumatology**, v. 36, n.12, p. 2711-2714, 2009.

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

AIRES, M.M. Hemodinâmica Renal. In: AIRES, M.M. **Fisiologia**. 3ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, sec. 7, cap. 49, p. 693-707, 2008b.

AIRES, M.M. Visão morfofuncional do Rim. In: AIRES, M.M. **Fisiologia**. 3ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, sec. 7, capítulo 48, p. 679-692, 2008c.

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

AMANN, K.; RYCHLÍK, I.; MILTENBERGER-MILTENY, G.; RITZ, E. Left ventricular hypertrophy in renal failure. **Kidney International**, v.54, n. 68, p. S78-S85, 1998.

AMMANN, P.; FEHR, T.; MINDER, E.I.; GUNTER, C.; BERTEL, O. Elevation of troponin I in sepsis and septic shock. **Intensive Care Medicine**, v. 27, p. 965-969, 2001.

ANDERSON, P.A.; MALOUF, N.N.; OAKELEY, A.E.; PAGANI, E.D.; ALLEN, P.D. Troponin I Isoform Expression in Humans - A Comparison Among Normal and Failing Adult Heart, Fetal Heart, and Adult and Fetal Skeletal Muscle. **Circulation Research**, v. 69, p. 1226-1233, 1991.

APPLE, F.S.; RICCHIUTI, V.; VOSS, E.M.; ANDERSON, P.A.; NEY, A.; ODLAND, M. Expression of cardiac troponin T isoforms in skeletal muscle of renal disease patients will not cause false-positive serum results by the second generation cardiac troponin T assay. **European Journal**, v. 19, sup. N, p. N30-N33, 1998.

BABITT, J.L.; LIN, H.Y. Mechanisms of Anemia in CKD. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 23, p. 1631-1634, 2012.

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

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

BAILLARD, C.; BOUSSARSAR, M.; FOSSE, J.P.; GIROU, E.; TOUMELIN, P.L.; CRACCO, C.; JABER, S.; COHEN, Y.; BROCHARD, L. Cardiac troponin I in patients with severe exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. **Intensive Care Medicine**, v. 29, p. 584-589, 2003.

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

BHAYANA, V.; HENDERSON, A.R. Biochemical Markers of Myocardial Damage. **Clinical Biochemistry**, v. 28, n. 1, p. 1-29, 1995.

BETHESDA, M.D. United States Renal Data System, 2014 annual data report: An overview of the epidemiology of kidney disease in the United States. **National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases**, v. 1, cap. 4, 2014.

BILBREY, G.L.; HERBIN, L.; CARTER, N.W.; KNOCHER, J.P. Skeletal Muscle Resting Membrane Potential in Potassium Deficiency. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 52, p. 3011-3018, 1973.

BODOR, G.S.; PORTERFIELD, D.; VOSS, E.M.; SMITH, S.; APPLE, F.S. Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. **Clinical Chemistry**, v. 41, n.12, p. 1710-1715, 1995.

BODOR, G.S.; SURVANT, L.; VOSS, E. M.; SMITH, S.; PORTERFIELD, D.; APPLE, F. S. Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle. **Clinical Chemistry**, v. 43, n. 3, p. 476-484, 1997.

BOUCHARD, J.; SOROKO, S.B.; CHERTOW, G.M.; HIMMELFARB, J.; IKIZLER, T.A.; PAGANINI, E.P.; MEHTA, R.L. Fluid accumulation, survival and recovery of kidney function in critically ill patients with acute kidney injury. **Kidney International**, v. 76, p. 422-427, 2009.

BRANDT, R.R.; FILZMAIER, K.; HANRATH, P. Circulating Cardiac Troponin I in Acute Pericarditis. **The American Journal of Cardiology**, v. 87, p. 1326-1328, 2001.

BRUYNE, L.K.M. Mechanisms and management of diuretic resistance in congestive heart failure. **Postgraduate Medical Journal**, v. 79, p. 268-271, 2003.

BURKE, A.; TAVORA, F. Hypersensitivity and toxic myocarditis. In: **Practical Cardiovascular Pathology**. Philadelphia. Wolters Kluwe Health| Lippincott William & Wilkins, chapter 23, section 4, p. 249-254, 2010.

BRYANT, D.; BECKER, L.; RICHARDSON, J.; SHELTON, J.; FRANCO, F.; PESHOCK, R.; THOMPSON, M.; GIROIR, B. Cardiac Failure in Transgenic Mice With Myocardial Expression of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ . **Circulation**, v. 97, p. 1375-1381, 1998.

BYDŁOWSKI, S.P.; MAGNANELLI, A.C.; CHAMONE, D.A.F. Hiper-Homocisteinemia e Doenças Vaso-Oclusivas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 71, n. 1, 1998.

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

CANNELLA, G.; PAOLETTI, E.; RAVERA, G.; CASSOTTANA, P.; ARAGHI, P.; MULAS, D.; PELOSO, G.; DELFINO, R.; MESSA, P.; SURICO, C. Inadequate diagnosis and therapy os arterial hypertension as causes of left ventricular hypertrophy in uremic dialysis patients. **Kidney International**, v. 58, p. 260-268, 2000.

CANZIANI, M.E.; MOYSÉS, R.M.A. Calcificação Vascular na DRC. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 30, p. 23-26, 2008.

CAPELLI, J.P.; KASPARIAN, H. Cardiac Work Demands and Left Ventricular Function in End-Stage Renal Disease. **Annals of Internal Medicine**, n.86, v.3, p. 261-267, 1977.

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

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

CHAMPION, T.; FRANCOY, C.; NETO, G.B.P.; CAMACHO, A.A. Electrocardiographic evaluation and serum cardiac troponin I levels in anemic dogs with blood parasitosis. **Ciências Agrárias**, v. 34, n.6, p. 2915-2924, 2013.

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

CHEVILLE, N.F. Uremic gastropathy in the dog. **Veterinary Pathology**, v. 16, p. 292-309, 1979.

CLARK, G.L.; ROBISON, A.K.; GNEPP, D.R.; ROBERTS, R.; SOBEL, B.E. Effects of Lymphatic Transport of Enzyme on Plasma Creatine Kinase Time-Activity Curves after Myocardial Infarction in Dogs. **Circulation Research**, v. 43, n. 2, p. 162-169, 1978.

CONFER, A.W.; PANCIERA, R.J. Sistema Urinário. In: CARLTON, W. W.; McGAVIN, M. D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2ª ed. Porto Alegre. Artmed, cap. 5, p. 228 – 265, 1998.

CONVERSE, R.L.; JACOBSEN, T.N.; TOTO, R.B.; JOST, C.M.T.; COSENTINO, F.; FOUAD-TARAZI, F.; VICTOR, R.G. Sympathetic overactivity in patients with chronic renal failure. **The New England Journal of Medicine**, v. 327, n. 27, p. 1912-197, 1992.

CORNELISSE, C.J.; SCHOTT, H.C.; OLIVIER, N.B.; MULLANEY, T.P.; KOLLER, A.; WILSON, D.V.; DERKSEN, F.J. Concentration of cardiac troponin I in a horse with a ruptured aortic regurgitation jet lesion and ventricular tachycardia. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, p. 231-235, 2000.

COSTA, J.A.C.; VIEIRA-NETO, O.M.; NETO, M.M. Insuficiência renal aguda. **Medicina Ribeirão Preto**, v.36, p. 307-324, 2003.

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

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Rim. In: Robbins **Patologia Estrutural e Funcional**. 6ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan S.A., cap.21, p. 834-894, 2000.

COULTER, D.B.; DUNCAN, R.J.; SANDER, P.D. Effects of Asphyxia and Potassium on Canine and Feline Electrocardiograms. **The Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 39, p. 442-449, 1975.

COWGILL, L.D.; FRANCEY, T. Acute Uremia. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 6ª ed. St. Louis. Elsevier Saunders, vol. 2, cap. 258, p. 1731-1751, 2005.

DAMMAN, K.; NAVIS, G.; SMILDE, T.D.J.; VOORS, A.A.; BIJ, W.V.D.; VELDHUISEN, D.J.V.; HILLEGE, H.L. Decreased cardiac output, venous congestion and the association with renal impairment in patients with cardiac dysfunction. **European Journal of Heart Failure**, v.9, p. 872-878, 2007.

DAMMAN, K.; VOORS, A.A.; HILLEGE, H.L.; NAVIS, G.; LECHAT, P.; VELDHUISEN, D.J.V.; DARGIE, H.J. Congestion in chronic systolic heart failure is related to renal dysfunction and increased mortality. **European Journal of Heart Failure**, n.12, p. 974-982, 2010.

DANTAS, A.F.M.; KOMMERS, G.D. Lesões extra-renais de uremia em 72 cães. **Ciência Rural**, v. 27, n.2, p. 301-306, 1997.

DAVIS, K.L.; LAINE, G.A.; GEISSLER, H.J.; MEHLHORN, U.; BRENNAN, M.; ALLEN, A.S.J. Effects of Myocardial Edema on the Development of Myocardial Interstitial Fibrosis. **Microcirculation**, v. 7, p. 269-280, 2000.

DESAI, K.V.; LAINE, G.A.; STEWART, R.H.; COX, C.S.; QUICK, C.M.; ALLEN, S.J.; FISCHER, U.M. Mechanics of the left ventricular myocardial interstitium: effects of acute and chronic myocardial edema. **American Journal of Physiology Heart Circulatory Physiology**, v. 294, p. 2428-2434, 2008.

DIBARTOLA, S.P. Management of hypokalemia and hyperkalemia. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 3, 2001.

DIBARTOLA, S.P. Fisiologia Renal Aplicada. In: DIBARTOLA, S.P. **Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico**. Tradução da 3ª ed. São Paulo. Roca, cap. 2, p. 26-42, 2007.

DIBARTOLA, S.P.; MORAIS, H.A. Distúrbios Relacionados ao Potássio: Hipo e Hipercalemia. In: DIBARTOLA, S.P. **Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico**. Tradução da 3ª ed. São Paulo. Roca, cap. 2, p. 26-42, 2007.

DIERKES, J.; DOMROSE, U.; WESTPHAL, S.; AMBROSCH, A.; BOSSELMANN, H.P.; NEUMANN, K.H.; LULEY, C. Cardiac Troponin I Predicts Mortality in Patients With End-Stage Renal Disease. **Circulation**, v. 102, p. 1964-1969, 2000.

DIESEL, W.; EMMS, M.; KNIGHT, B.K.; NOAKES, T.D.; SWANEPOEL, C.R.; SMIT, R.Z. Morphologic features of the myopathy associated with chronic renal failure. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 22, n. 5, p. 677-684, 1993.

DINIZ, P.P.V.P.; SCHWARTZ, D.S.; COLLICCHIO-ZUANAZE, R.C. Cardiac trauma confirmed by cardiac markers in dogs: two case reports. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n.1, p. 85-89, 2007.

DINIZ, P.P.V.P.; DE MORAIS, H.S.A.; BREITSCHWERDT, E.B.; SCHWARTZ, D. S. Serum cardiac troponin I concentration in dogs with ehrlichiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 5, p. 1136-1143, 2008.

DIRIS, J.H.C.; HACKENG, C.M.; KOOMAN, J.P.; PINTO, Y.M.; HERMENS, W.T.; DIEIJEN-VISSER, M.P. Impaired Renal Clearance Explains Elevated Troponin T Fragments in Hemodialysis Patients. **Circulation**, v. 109, p. 23-25, 2004.

DIVERS, T.J. Moléstias do sistema renal. In: SMITH, B. P. Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais. **Moléstia de equinos, bovinos, ovinos e caprinos**. 1ª ed. São Paulo. Manole, cap. 32, v.1 p. 873-900, 1993.

DORAN, J.P.; HOWIE, A. J.; TOWNEND, J. N.; BONSER, R. S. Detection of myocardial infarction by immunohistological staining for C9 on formalin fixed, paraffin wax embedded sections. **Journal Clinical Pathology**, v. 49, p. 34-37, 1996.

EMANUELLI, M.P.; LOPES, S.T.A.; SCHMIDT, C.; MACIEL, R.M.; GODOY, C.L.B. Hipoadrenocorticismo primário em um cão. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1484-1487, 2007.

FELDMAN, J.; GOLDWASSER, G.P. Eletrocardiograma: recomendações para a sua interpretação. **Revista da SOCERJ**, v. 17, n. 4, p. 251-256, 2004.

FISHBEIN, M.C.; WANG, T.; MATIJASEVIC, M.; HONG, L.; APLE, F.S. Myocardial tissue troponins T and I. **Cardiovascular Pathology**, v. 12, n. 2, p. 65-71, 2003.

FREDA, B.J.; TANG, W.H.W.; LENTE, F.V.; PEACOCK, W.F.; FRANCIS, G.S. Cardiac troponins in Renal Insufficiency. Review and clinical implications. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 40, n. 12, p. 2065-2071, 2002.

GERHARDT, W.; NORDIN, G.; LJUNGDAHL, L. Can troponin T replace CK MB mass as “gold standard” for acute myocardial infarction (AMI)? **Scandinavian Journal of Clinical & Laboratorial Investigation**, v. 230, p. 83–89, 1999.

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

GOFFLOT, S.; KISCHEL, P.; THIELEN, C.; RADERMACHER, V.; BONIVER, J.; LEVAL, L. Characterization of an antibody panel for immunohistochemical analysis of canine muscle cells. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 125, p. 225-233, 2008.

GRANT, D.; FORRESTER, S.D. Diseases of the Kidney and ureter. In: BIRCHARD S.J.; SHERDING, R.G. **Saunders manual of small animal practice**. 3<sup>a</sup> ed. Missouri. Saunders Elsevier, chapter 77, p. 861-888, 2006.

GRAUER, G.F. Acute Renal Failure and Chronic Kidney Disease. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Small animal Internal Medicine**. 4<sup>a</sup> ed. Missouri. Mosby Elsevier, cap. 44, p. 645-679, 2009.

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

GULDENER, C. Why is homocysteine elevated in renal failure and what can be expected from homocysteine-lowering? **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 21, p. 1161-1166, 2006.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. O Músculo Cardíaco: o Coração como uma Bomba e a Função das Valvas Cardíacas. In: **Tratado de Fisiologia Médica**, Tradução da 12<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro. Elsevier, unid. III, cap. 9, p. 107-120, 2011.

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

HANSEN, S. H.; ROSSEN, K. Evaluation of cardiac troponin I immunoreactions in autopsy hearts: a possible marker of early myocardial infarction. **Forensic Science International**, v. 99, n.3, p. 189-196, 1999.

HARVEY, M.G.; HANCOX, R.J. Elevation of cardiac troponins in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. **Emergency Medicine Australasia**, v. 16, p. 212-215, 2004.

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

HERZOG, C.A.; MA, J.Z.; COLLINS, A.J. Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. **The New England Journal of Medicine**, v. 339, n.12, p. 799-805, 1998.

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

HIGGINS, J.P.; HIGGINS, J.A. Elevation of cardiac troponin I indicates more than myocardial ischemia. **Clinical & Investigative Medicine**, v.26, n.3, p. 133-147, 2003.

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

HIMMELFARB, J.; MCMONAGLE, E.; FREEDMAN, S.; KLENZAK, J.; MCMENAMIN, E.; LE, P.; PUPIM, L.B.; IKIZLER, T.A. Oxidative Stress Is Increased in Critically Ill Patients with Acute Renal Failure. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, p. 2449-2456, 2004.

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

ILIOU, M.C.; FUMERON, C.; BENOIT, M.O.; TUPPIN, P.; COURVOISIER, C.L.; CALONGE, V.M.; MOATTI, N.; BUISSON, C.; JACQUOT, C. Factors associated with increased serum levels of cardiac troponins T and I in chronic haemodialysis patients: Chronic Haemodialysis And New Cardiac Markers Evaluation (CHANCE) study. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 16, p. 1452-1458, 2001.

IP, J.E.; CHEUNG, J.W.; PARK, D.; HELLAWELL, J.L.; STEIN, K.M.; IWAI, S.; LIU, C.F.; LERMAN, B.B.; MARKOWITZ, S.M. Temporal Associations Between Thoracic Volume Overload and Malignant Ventricular Arrhythmias: A Study of Intrathoracic Impedance. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 22, n. 3, 2011.

JAFFE, A.S.; RAVKILDE J.; ROBERTS R.; NASLUND, U.; APPLE, F.S.; GALVANI, M.; KATUS, H. It's Time for a Change to a Troponin standard. **Circulation**, v. 102, n. 11, p. 1216-1220, 2000.

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

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

JEREMIAS, A.; GIBSON, M. Narrative Review: Alternative Causes for Elevated Cardiac Troponin Levels when Acute Coronary Syndromes Are Excluded. **Annals of Internal Medicine**, v. 142, n. 9, p. 786-791, 2005.

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

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

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Tecido muscular. In: **Histologia Básica**. 12ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, cap. 10, p. 177-198, 2013.

KAJSTURA, J.; CIGOLA, E.; MALHOTRA, A.; LI, P.; CHENG, W.; MEGGS, L.G.; ANVERSA, P. Angiotensin II Induces Apoptosis of Adult Ventricular Myocytes In Vitro. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 29, p. 859-870, 1997.

KATUS, H.A.; REMPPIS, A.; NEUMANN, F.J.; SCHEFFOLF, T.; DIEDERICH, K.W.; VINAR, G.; NOE, A.; MATERN, G.; KUEBLER, W. Diagnostic Efficiency of Troponin T Measurements in Acute Myocardial Infarction. **Circulation**, v. 83, n. 2, p. 902-912, 1991.

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

KELLY, K.J.; WILLIAMS, W.W.; COLVIN, R.B.; MEEHAN, S.M.; SPRINGER, T.A.; GUTIERREZ-RAMOS, J.C.; BONVENTRE, J.V. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are protected against ischemic renal injury. **Journal of Clinical Investigation**, v. 97, n. 4, p. 1056–1063, 1996.

KELLY, K.J. Distant Effects of Experimental Renal Ischemia/Reperfusion Injury. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 14, p. 1549-1558, 2003.

KENNEDY, D.J.; VETTETH, S.; PERIYASAMY, S.M.; KANJ, M.; FEDOROVA, L.; KHOURI, S.; KHALEH, M.B.; XIE, Z.; MALHOTRA, D.; KOLODKIN, N.I.; LAKATTA, E.G.; FEDOROVA, O.V.; BAGROV, A.Y.; SHAPIRO, J.I. Central Role for the Cardiotonic Steroid Marinobufagenin in the Pathogenesis of Experimental Uremic Cardiomyopathy. **Hypertension**, v. 47, p. 488-495, 2006.

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

KHAN, I.A.; TUN, A.; WATTANASAUWAN, N.; WIN, M.T.; HLA, T.A.; HUSSAIN, A.; VASAVADA, B.C.; SACCHI, T.J. Elevation of Serum Cardiac Troponin I in Noncardiac and Cardiac Diseases Other Than Acute Coronary Syndromes American. **Journal of Emergency Medicine**, v. 17, n. 3, 1999.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical Appendix IX- Blood Analyte Reference Values in Small and Some Laboratory Animals. In: **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. San Diego. Elsevier Inc., appendix IX, p. 889-895, 2008.

KIM, S.; IWAO, H. Molecular and Cellular Mechanisms of Angiotensin II-Mediated Cardiovascular and Renal Diseases. **Pharmacological Reviews**, v. 52, n. 1, 2011.

KLOCKE, F.J.; COPLEY, D.P.; KRAWCZYK, J.A.; REICHLIN, M. Rapid Renal Clearance of Immunoreactive Canine Plasma Myoglobin. **Circulation**, v. 65, n. 7, p. 1522-1528, 1982.

KRAWIEC, D.R. Renal failure in immature dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 23, p. 101-107, 1987.

LA VECCHIA, L.; MEZZENA, G.; OMETTO, R.; FINOCCHI, G.; BEDOGNI, F.; SOFFIATI, G.; VINCENZI, M. Detectable serum troponin I in patients with heart failure of nonmyocardial ischemic origin. **American Journal of Cardiology**, v. 80, p. 88-90, 1997.

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

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

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

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

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

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

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

LEVEY, A.S.; BETO, J.A.; CORONADO, B.E.; EKNOYAN, G.; FOLEY, R.N.; KASISKE, B.L.; KLAG, M.L.; MAILLOUX, L.U.; MANSKE, C.L.; MEYER, K.B.; PARFREY, P.S.; PFEFFER, M.A.; WENGER, N.K.; WILSON, P.W.F.; WRIGHT, J.T. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: What do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? **American Journal of Kidney Diseases**, v. 32, n. 5, p. 853-906, 1998.

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

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

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

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

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

MAHAJAN, N.; MEHTA, Y.; ROSE, M.; SHANI, J.; LICHSTEIN, E. Elevated troponin level is not synonymous with myocardial infarction. **International Journal of Cardiology**, v. 111, p. 442-449, 2006.

MALLAMACI, F.; ZOCCALI, C.; TRIPEPI, G.; FERMO, I.; BENEDETTO, F.A.; CATALIOTTI, A.; BELLANUOVA, I.; MALATINO, L.S.; SOLDARINI, A. Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. **Kidney International**, v. 61, p. 609-614, 2002.

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

MARTINS, C.S. Troponina. Estrutura, fisiopatologia e importância clínica para além da isquemia miocárdica. **Arquivo de Medicina**, v. 23, n. 6, p. 221-240, 2009.

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

MASSRY, S.G.; GOLDSTEIN, D.A. Role of parathyroid hormone in uremic toxicity. **Kidney International**, v. 13, n. 8, p. 39-42, 1978.

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

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

MCCLELLAN, W.; ARONOFF, S.L.; BOLTON, W.K.; HOOD, S.; LORBER, D.L.; TANG, K.L.; TSE, T.F.; WASSERMAN, B.; LEISEROWITZ, M. The prevalence of anemia in patients with chronic kidney disease. **Current Medical Research & Opinion**, v. 20, n. 9, p. 1501-1510, 2004.

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

MCCULLY, K.S. Vascular Pathology of Homocysteinemia: Implications for the Pathogenesis of Arteriosclerosis. **American Journal of Pathology**, v. 56, n. 1, p. 111-128, 1969.

MCCULLY, K.S.; WILSON, R.B. Homocysteine theory of arteriosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 22, p. 215-227, 1975.

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

MCCULLOUGH, P.A. Cardiorenal Intersection: Crossroads to the Future. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 88, n.1, p. 100-108, 2007.

MEHTA, N.J.; JANI, K.; KHAN, I.A. Clinical usefulness and prognostic value of elevated cardiac troponin I levels in acute pulmonary embolism. **American Heart Journal**, 145:821-5, 2003.

MELGAÇO, S.S.C.; SARAIVA, M.I.R.; LIMA, T.T.C.; JÚNIOR, G.B.S.; DAHER, E.F. Nefrotoxicidade dos anti-inflamatórios não esteroidais. **Medicina Ribeirão Preto**, v. 43, n. 4, p. 382-390, 2010.

MILL, J.G. Bases Fisiológicas da Eletrocardiografia. In: AIRES, M.M. **Fisiologia**. 3ª edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, seção 5, cap. 28, p. 417-434, 2008.

MONTAGUE, B.T.; OUELLETTE, J.R.; BULLER, G.K. Retrospective review of the frequency of ECG changes in hyperkalemia. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 3, p. 324-330, 2008.

MOREIRA, P.R.; BARROS, E. Atualização em fisiologia e fisiopatologia renal: bases fisiopatológicas da miopatia na insuficiência renal crônica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 22, n. 1, p. 201-208, 2000.

NASCIMENTO, J.H.M.; SANTOS, P.E.B.; CARVALHO, A.C.C.; MASUDA, M.O. Eletrofisiologia do coração. In: AIRES, M. **Fisiologia**. 3ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, seção 5, cap. 27, p. 385-416, 2008.

NEUMAYR, G.; GAENZER, H.; PFISTER, R.; STURM, W.; SCHWARZACHER, S.P.; EIBL, G.; MITTERBAUER, G.; HOERTNAGL, H. Plasma Levels of Cardiac Troponin I After Prolonged Strenuous Endurance Exercise. **The American Journal of Cardiology**, v. 87, p. 369- 371, 2001.

NEWMAN, S.J.; CONFER, A.W.; PANCIERA, R.J. Sistema urinário. In: MCGAVIN, M.D. e ZACHARY, J.F. **Bases da patologia em veterinária**. Tradução da 4ª ed. Rio de Janeiro. Elsevier, sec. II, cap. 11, p. 613-692, 2009.

NIMMO, A.J.; THAN, N.; ORCHARD, C.H.; WHITAKER, E.M. The Effect of Acidosis on  $\beta$ -adrenergic receptors in ferret cardiac muscle. **Experimental Physiology**, v. 78, p. 95-103, 1993.

NOHRIA, A.; HASSELBLAD, V.; STEBBINS, A.; PAULY, D.F.; FONAROW, G.C.; SHAH, M.; YANCY, C.W.; CALIFF, R.M.; STEVENSON, L.W.; HILL, J.A. Cardiorenal

Interactions - Insights From the ESCAPE Trial. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 51, n. 3, p. 1268-1274, 2008.

NUNES, J.P.L.; GARCIA, J.M.M.; FARINHA, R.M.B.; SILVA J.C.; MAGALHAES D.; PINHEIRO L.V.; LIMA, C.A. Cardiac troponin I in aortic valve disease. **International Journal of Cardiology**, v. 89, p. 281-285, 2003.

OFFERMAN, S.R.R.; LEERS, M.P.G.; SUYLEN, R.J.V.; NAP, M.; DAEMEN, M.J.A.P.; THEUNISSEN, P.H.M.H. Evaluation of the membrane attack complex of complement for the detection of a recent myocardial infarction in man. **The Journal of Pathology**, v. 191, p. 48-53, 2000.

ORDÓÑEZ, N.G.; ROSAI, J. Urinary tract. In: ROSAI, J. **Rosai and Ackerman's surgical pathology**. 9ª ed. London. Mosby Elsevier, vol.1, cap. 17, p. 1163-1359, 2004.

ORTMANN, C.; PFEIFFER, H.; BRINKMANN, B. A comparative study on the immunohistochemical detection of early myocardial damage. **International Journal of Legal Medicine**, v. 113, p. 215-220, 2000a.

ORTMANN, C.; PFEIFFER, H.; BRINKMANN, B. Demonstration of myocardial necrosis in the presence of advanced putrefaction. **International Journal of Legal Medicine**, v. 113, p. 215-220, 2000b.

OUYANG, J.; GUZMAN, M.; DESOTO-LAPAIX, F.; PINCUS, M.R.; WIECZOREK, R. Utility of desmin and a Masson's trichrome method to detect early acute myocardial infarction in autopsy tissues. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 3, n. 1, p. 98-105, 2010.

PATEINAKIS, P.; PAPAGIANNI, A. Cardiorenal Syndrome Type 4 - Cardiovascular Disease in Patients with Chronic Kidney Disease: Epidemiology, Pathogenesis, and Management. **International Journal Of Nephrology**, v. 2011, p. 1-8, 2011.

PAVARINI, S.P.; BANDINELLI, M.B.; JUFFO, G.D.; SOUZA, S.O.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.E.F. Decreased expression of cardiac troponin C is associated with cardiac lesions in *Amarimia exotropa* poisoned cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1005-1008, 2012.

PEIXOTO, P.V.; BRUST, L.A.C.; BRITO, M.F.; FRANÇA, T.N.; CUNHA, B.R.M.; ANDRADE, G.B. Intoxicação natural por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae) em ovinos no sudeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 179-184, 2003.

POLZIN, D.J.; OSBORNE, C.A.; ROSS, S. Chronic Kidney Disease. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 6ª ed. St. Louis. Elsevier Saunders, vol. 2, cap. 260, p. 1756-1785, 2005.

PRABHU, S.D. Cytokine-Induced Modulation of Cardiac Function. **Circulation Research**, v. 95, p. 1140-1153, 2004.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Doenças do sistema urinário. In: **Clínica Veterinária. Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos**,

**Caprinos e Equinos**. 9ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, capítulo 11, p. 428-447, 2002.

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

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

RICCHIUTI, V.; APPLE, F.S. RNA Expression of Cardiac Troponin T Isoforms in Diseased Human Skeletal Muscle. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 2129-2135, 1999.

RIZVI, M.A.D.; KATWA, L.; SPADONE, D.P.; MYERS, P.R. The effects of endothelin-1 on collagen type I and type III synthesis in cultures porcine coronary artery vascular smooth muscle cells. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 28, p. 243-252, 1996.

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

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

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

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

RUMP, L.C.; AMANN, K.; ORTH, S.; RITZ, E. Sympathetic overactivity in renal disease: a window to understand progression and cardiovascular complications of uraemia? **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 15, p. 1735-1738, 2000.

SADAYAPPAN, S.; FINLEY, N.; HOWARTH, J.W.; OSINSKA, H.; KLEVITSKY, R.; LORENZ, J.N.; ROSEVEAR, P.R.; ROBBINS, J. Role of the acidic N' region of cardiac troponin I in regulating myocardial function. **The FASEB Journal**, v. 22, p. 1246-1257, 2008.

SAGGIN, L.; GORZA, L.; AUSONI, S.; SCHIAFFINO, S. Cardiac troponin T in developing, regenerating, and denervated rat skeletal muscle. **Development**, v. 110, p. 547-554, 1990.

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

SANTOS, S.F.F.; MENDES, R.B.; SANTOS, C.A.; DORIGO, D.; PEIXOTO, A.J. Profile of Interdialytic Blood Pressure in Hemodialysis Patients. **American Journal of Nephrology**, v. 23, p. 96-106, 2003.

SARTURI, P.S. **Alterações ultra-estruturais no miocárdio determinadas pela hipoxemia crônica secundária à anemia decorrente da Insuficiência Renal Crônica**. 2007. 82 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas: Nefrologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SCHOBBER, K.E.; KIRBACH, B.; OECHTERING, G. Noninvasive assessment of myocardial cell injury in dogs with suspected cardiac contusion. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 1, n. 2, p. 17-25, 1999.

SCHREIER, T.; KEDES, L.; GAHLMANN, R. Cloning, structural analysis, and expression of the human slow twitch skeletal muscle/cardiac troponin C gene. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 34, p. 47-53, 1990.

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

SCIRICA, B.M.; MORROW, D.A.; CANNON, C.P.; LEMOS, J.A.; MURPHY, S.; SABATINE, M.S.; WIVIOTT, S.D.; RIFAI, N.; MCCABE, C.H.; BRAUNWALD, E. Clinical Application of C-Reactive Protein Across the Spectrum of Acute Coronary Syndromes. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 1800-1807, 2007.

SCHEUER, J.; STEZOSKI, S.W. The Effects of Uremic Compounds on Cardiac Function and Metabolism. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 5, p. 287-300, 1973.

SHARKEY, L.C.; BERZINA, I.; FERASIN, L.; TOBIAS, A.H.; LULICH, J.P.; HEGSTAD-DAVIES, R.L. Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in dogs with renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 234, n. 6, p. 767-770, 2009.

SICILIANO, M.; METTIMANO, M.; DONDOLINI-POLI, A.; BALLARIN, S.; MIGNECO, A.; ANNESE, R.; FAZZARI, L.; FEDELI, P.; MONTEBELLI, M.R.; ZUPPI, C.; SAVI, L. Troponin I serum concentration: a new marker of left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension. **Italian Heart Journal**, v. 1, n. 8, p. 532-535, 2000.

SILBERBERG, J.S.; RAHAL, D.P.; PATTON, D.R.; SNIDERMAN, A.D. Role of Anemia in the Pathogenesis of Left Ventricular Hypertrophy in End-Stage Renal Disease. **The American Journal of Cardiology**, v. 64, p. 222-224, 1989.

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

SILVA, S.H.; MORESCO, R.N. Biomarcadores cardíacos na avaliação da síndrome coronariana aguda. **Scientia Medica** (Porto Alegre), v. 21, n. 3, p. 132-142, 2011.

SINGH, K.; XIAO, L.; REMONDINO, A.; SAWYER, D.B.; COLUCCI, W.S. Adrenergic Regulation of Cardiac Myocyte Apoptosis. **Journal of Cellular Physiology**, v. 189, p. 257-265, 2001.

SINGH, V.; MARTINEZCLARK, P.; PASCUAL, M.; SHAW, E.S.; O'NEIL, W.W. Cardiac biomarkers-the old and the new: a review. **Coronary Artery Disease**, v. 21, n. 4, 2010.

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

SLATOPOLSKY, E.; BROWN, A.; DUSSO, A. Role of Phosphorus in the Pathogenesis of Secondary Hyperparathyroidism. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 37, n. 1, p. S54-S57, 2001.

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

SLOVIS, C.; JENKINS, R. ABC of clinical eletrocardiography. Conditions not primally affecting the heart. **British Medical Journal**, v. 324, p.1320-1323, 2005.

SMITH, S.C.; LADENSON, J.H.; MASON, J.W.; JAFFE, A.S. Elevations of cardiac troponin I associated with myocarditis: experimental and clinical disorders. **Circulation**, v. 95, p. 163-168, 1997.

SMITH, J.R., F.W.K; SCHROPE, D.P.; SAMMARCO, C.D. Cardiovascular Effects of Systemic Diseases. In: **Manual of Canine and Feline Cardiology**. 4<sup>a</sup> ed. St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders, cap. 13, p. 240- 276, 2008.

STEVENS, M.S.; DUNLAY, R.W. Hyperkalemia in hospitalized patients. **International Urology and Nephrology**, v. 32, p. 177-180, 2000.

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

TAKKEN A.; CONNOR J.K. Some toxicological aspects of grain amaranth for pigs. In: SEAWRIGTH, A.A.; HEGARTY, M.P.; JAMES, L.F.; KEELER, R.F. **Plant Toxicology**. Proc. Australia-USA Poisonous Plants Symposium, Queensland Poisonous Plant Committee, Brisbane, Australia, Yeerongpilly, p.170-177, 1985

THOMOVSKY, E.J.; PLUNKETT, S.J. Urinary emergencies and electrolyte disorders. In: PLUNKETT, S.J. **Emergency Procedures for the Small Animal Veterinarian**. Saunders Elsevier, cap. 11, p. 342-400, 2013.

THOMPSON, K. Bones and Joints. In: **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5<sup>a</sup> ed. Philadelphia. Elsevier Saunders, cap. 1, v. 1, p. 2-184, 2007.

TUCKER, B.; FABBIAN, F.; GILES, M.; THURASINGHAM, R.C.; RAINE, A.E.G.; BAKER, L.R.I. Left ventricular hypertrophy and ambulatory blood pressure monitoring in chronic renal failure. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 12, p. 724-728, 1997.

- TUNCA, R.; SOZMEN, M.; ERDOGAN, H.; CITIL, M.; UZLU, E.; OZEN, H.; GOKÇE, E. Determination of cardiac troponin I in the blood and heart of calves with foot-and-mouth disease. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, n. 5, p. 598-605, 2008.
- VADEN, S.L.; LEVINE, J.; BREITSCHWERDT, E.B. A Retrospective Case-Control of Acute Renal Failure in 99 Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, p. 58-64, 1997.
- VASALLO, D.V.; OLIVEIRA, E.M.; STEFANON, I. Contratilidade Miocárdica. In: AIRES, M.M. **Fisiologia**. 3ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, seção 5, cap. 29, p. 435-469, 2008.
- VERLANDER, J.W. Fisiologia renal. In: CUNNINGHAM, J.G.; KLEIN, B.G. **Fisiologia dos animais Domésticos**. 4ª ed. Rio de Janeiro. Elsevier Saunders, p. 527-547, 2008.
- VISWANATHAN, G.; GILBERT, S. The Cardiorenal Syndrome: Making the Connection. **International Journal of Nephrology**, v. 2011, p. 1-10, 2011.
- VLEET, J.F.V.; FERRANS, V.J. Sistema Cardiovascular. In: MCGAVIN, M.D. e ZACHARY, J.F. **Bases da patologia em veterinária**. Tradução da 4ª ed. Rio de Janeiro. Elsevier, sec. II, cap. 10, p. 559-612, 2009.
- WARE, W.A. Diagnostic Tests for the Cardiovascular System. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Small Animal Internal Medicine**. 4ª ed. Missouri. Mosby Elsevier, cap. 2, p. 12-52, 2009.
- WELLS, S. M.; SLEEPER, M. Cardiac troponins. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 18, n. 3, p. 235-245, 2008.
- WRENN, K.D.; SLOVIS, C.M.; SLOVIS, B.S. The Ability of Physicians to Predict Hyperkalemia From the ECG. **Annals of Emergency Medicine**, v. 20, n. 11, p. 1229-1232, 1991.
- XAVIER, A.; PUZZI, M.B.; POLIZER, K.; LITFALLA, F. Insuficiência renal aguda. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, ano VI, n. 10, 2008.
- YASOJIMA, K.; SCHWAB, C.; MCGEER, P.L. Human heart generates complement proteins that are upregulated and activated after myocardial infarction. **Circulation Research**, v. 83, n. 8, p. 860-869, 1998.
- YERKEY, M.W.; KERNIS, S.J.; FRANKLIN, B.A.; SANDBERG, K.R.; MCCULLOUGH, P.A. Renal Dysfunction and acceleration of coronary disease. **Heart**, v. 90, p. 961-966, 2004.
- ZELLWEGER, M.J.; SCHAER, B.A.; CRON, T.A.; PFISTERER, M.E.; OSSWALD, S. Elevated troponin levels in the absence of coronary artery disease after supraventricular tachycardia. **Swiss Medical Weekly**, v. 133, p. 439-441, 2003.
- ZOYSA, J.R.D. Cardiac troponins and renal disease. **Nephrology**, v. 9, p. 83-88, 2004.