

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**Aspectos patológicos das doenças cardiovasculares não infecciosas em cães e gatos**

Fernando Froner Argenta

Porto Alegre, fevereiro de 2021.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

#### CIP - Catalogação na Publicação

Froner Argenta, Fernando  
Aspectos patológicos das doenças cardiovasculares  
não infecciosas em cães e gatos / Fernando Froner  
Argenta. -- 2021.  
126 f.  
Orientadora: Luciana Sonne.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre,  
BR-RS, 2021.

1. Patologia Veterinária. 2. Cadiomiopatia. 3.  
Caninos. 4. Felinos. I. Sonne, Luciana, orient. II.  
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**FERNANDO FRONER ARGENTA**

**Tese apresentada como requisito parcial para  
obtenção do grau de Doutor em Ciências  
Veterinárias na área de concentração em Medicina  
Veterinária Preventiva e Patologia: Patologia  
Animal e Patologia Clínica**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Luciana Sonne**

Porto Alegre, fevereiro de 2021.

FERNANDO FRONER ARGENTA

**ASPECTOS PATOLÓGICOS DAS DOENÇAS CARDIOVASCULARES NÃO  
INFECCIOSAS EM CÃES E GATOS**

Aprovado em 23/02/2021.

APROVADO POR:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Sonne

Orientadora e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini (UFRGS)

Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Janildo Ludolf Reis Junior (UFJF)

Membro da Comissão

---

Dr. Eduardo Kenji Masuda (Laboratório Axys Análises)

Membro da Comissão

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu pai Jair José Argenta, à minha mãe Marliza Terezinha Froner Argenta e ao meu irmão Rafael Froner Argenta pelo incentivo e apoio incondicional. Aos meus amigos e familiares que estiveram comigo neste período de pós-graduação. Obrigado pelo companheirismo e paciência.

Agradeço à minha orientadora Luciana Sonne e aos professores Saulo Petinatti Pavarini e David Driemeier, pelos ensinamentos, oportunidades e atenção. Aos meus colegas e amigos do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Um agradecimento em especial para a Lauren de Mello, Fernanda Cony, Mônica Slaviero, Joanna Echenique, Alexia Zorzan e Marcele Bandinelli, pelo esforço e ajuda na realização dos manuscritos. Agradeço às veterinárias Rochana Rodrigues e professora Fernanda da Costa pelas informações clínicas e sugestões nos trabalhos com felinos. Agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado.

## RESUMO

O diagnóstico de doenças cardiovasculares em animais domésticos representa um desafio para os clínicos veterinários, conseqüente da alta frequência de doenças subclínicas e uma tendência para os primeiros sinais clínicos de insuficiência cardíaca apresentarem início súbito e grave. No Brasil, são escassos os trabalhos publicados sobre doenças cardiovasculares em cães e gatos. Dessa forma, nesta tese estão incluídos quatro manuscritos abordando esse tema. O primeiro manuscrito teve o objetivo de determinar a frequência e descrever os aspectos patológicos das cardiomiopatias diagnosticadas em 72 gatos no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As cardiomiopatias afetaram mais comumente gatos machos e com mediana de idade de sete anos. A cardiomiopatia hipertrófica foi a classificação morfológica mais frequente, seguida das formas restritiva e dilatada. As cardiomiopatias são importantes causas de morte em gatos e devem ser incluídas no diagnóstico diferencial de pacientes com sinais clínicos cardiorrespiratórios e nos casos relacionados à morte súbita e paresia aguda de membros pélvicos. O segundo manuscrito teve o objetivo de descrever as características patológicas e imuno-histoquímicas no coração em gatos com neoplasmas das glândulas tireoides e adrenais. Cardiomegalia e hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo foram os principais achados macroscópicos, e histologicamente identificou hipertrofia, desarranjo das miofibras e fibrose. A imuno-histoquímica (IHQ) com o uso dos marcadores BNP, cTnC e desmina foi uma ferramenta útil para a detecção de lesões cardíacas. O terceiro manuscrito descreveu as características macroscópicas, microscópicas e de IHQ das alterações cardiovasculares observadas em cães com feocromocitomas. Histologicamente os principais achados foram necrose, infiltrado inflamatório e fibrose no ventrículo esquerdo. A IHQ para a troponina C mostrou ser uma ferramenta útil para a detecção de necrose miocárdica principalmente em lesões incipientes. O quarto manuscrito determinou os dados epidemiológicos e patológicos de cães acometidos por doenças congênitas cardiovasculares. Essas alterações congênitas foram doenças importantes em cães de raças definidas e com idade mediana de quatro meses. Estenose subaórtica foi o defeito mais comumente encontrado, seguido por defeito do septo atrial e persistência do arco aórtico direito. O estudo das doenças cardiovasculares faz-se essencial para a melhor compreensão destas doenças na população canina e felina analisada. Estas informações podem ser úteis para a otimização de medidas de prevenção, tratamento e diagnóstico.

**Palavras chaves:** Patologia, coração, histologia, imuno-histoquímica, caninos, felinos.

## ABSTRACT

The diagnosis of cardiovascular diseases in domestic animals represents a challenge for veterinary clinicians, due to the high frequency of subclinical diseases and a tendency for the first clinical signs of heart failure to present sudden and severe onset. In Brazil, published studies on cardiovascular diseases in dogs and cats are scarce. Thus, in this thesis are included four manuscripts addressing this theme. The first manuscript aimed describe the pathological aspects and frequency of cardiomyopathies diagnosed in 72 cats at the Veterinary Pathology Sector of the Federal University of Rio Grande do Sul. Cardiomyopathies most commonly affected male cats with a median age of seven years. Hypertrophic cardiomyopathy was the most frequent morphological classification, followed by restrictive and dilated forms. Cardiomyopathies are important causes of death in cats and should be included in the differential diagnosis of patients with clinical cardiorespiratory signs and in cases related to sudden death and acute pelvic limb paresis. The second manuscript aimed to describe the pathological and immunohistochemical characteristics of the heart in cats with thyroid and adrenal glands neoplasms. Cardiomegaly and concentric left ventricular hypertrophy were the main gross findings, and histologically identified hypertrophy, myofiber disarray and fibrosis. Immunohistochemistry (IHC) using the BNP, cTnC and desmin markers was a useful tool for the detection of cardiac lesions. The third manuscript described the gross, microscopic and IHC characteristics of the cardiovascular features observed in dogs with pheochromocytomas. Histologically, the main findings were necrosis, inflammatory infiltrate and fibrosis in the left ventricle. IHC for troponin C has proved to be a useful tool for the detection of myocardial necrosis, especially in incipient lesions. The fourth manuscript determined the epidemiological and pathological data of dogs affected by congenital cardiovascular diseases. These congenital changes were important diseases in dogs of defined breeds and with a median age of four months. Subaortic stenosis was the most commonly found defect, followed by atrial septal defect and persistence of the right aortic arch. The study of cardiovascular diseases is essential for a better understanding of these diseases in the analyzed canine and feline population. This information can be useful for the optimization of prevention, treatment and diagnosis measures.

**Key words:** Pathology, heart, histology, immunohistochemistry, canines, felines.

## SÚMARIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>7</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1 Estruturas e funções cardiovasculares</b> .....	<b>9</b>
<b>2.2 Principais doenças cardiovasculares não infecciosas de cães e gatos</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2.1 Alterações congênitas do sistema cardiovascular</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2.2 Cardiomiopatias em gatos</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2.3 Cardiomiopatia dilatada em cães</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2.4 Cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2.5 Endocardiose</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2.6 Necrose e degeneração miocárdicas</b> .....	<b>18</b>
<b>2.2.6.1 Cardiotoxicose induzida por doxorubicina</b> .....	<b>18</b>
<b>2.2.6.2 Necrose miocárdica induzida por catecolaminas</b> .....	<b>18</b>
<b>2.2.7 Neoplasmas</b> .....	<b>19</b>
<b>2.3 Marcadores imuno-histoquímicos utilizados no sistema cardiovascular</b> .....	<b>21</b>
<b>3 RESULTADOS</b> .....	<b>23</b>
<b>3.1 Artigo 1</b> .....	<b>24</b>
<b>3.2 Artigo 2</b> .....	<b>35</b>
<b>3.3 Artigo 3</b> .....	<b>80</b>
<b>3.4 Artigo 4</b> .....	<b>112</b>
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>119</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>120</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O sistema cardiovascular é constituído por estruturas que proporcionam o bombeamento, transporte e a distribuição de substâncias essenciais à demanda metabólica do organismo. As principais funções do sistema cardiovascular são: manter o fluxo sanguíneo para os tecidos, distribuir oxigênio e remover gás carbônico e metabólitos, além da distribuição de hormônios e manutenção da termorregulação (OCARINO *et al.*, 2016). As doenças cardiovasculares de cães e gatos são cada vez mais frequentes na rotina clínica e laboratorial, isto se deve, principalmente ao fato da maior longevidade dos animais, melhor conhecimento técnico dos veterinários e avanços nas técnicas de diagnóstico. A rotina clínica de felinos tem aumentado significativamente no decorrer dos últimos anos em razão da grande intensificação da criação de gatos, com necessidade de melhorias no conhecimento clínico e patológico das doenças que afetam os felinos domésticos, além de um entendimento das particularidades desta espécie. O estudo aprofundado permite determinar quais doenças são importantes na população analisada, definir estratégias de prevenção e tratamento, desta forma, aumentar a qualidade e a expectativa de vida dos animais (BONNETT *et al.*, 2005; SANTO, 2007).

O diagnóstico de doença cardíaca na medicina veterinária representa um desafio para os veterinários clínicos, em razão da alta frequência da doença subclínica, pacientes de diferentes idades e uma tendência para os primeiros sinais clínicos de insuficiência cardíaca apresentar início súbito e grave (BORGEAT *et al.*, 2015). São utilizados diversos marcadores funcionais e bioquímicos na tentativa de estabelecer o diagnóstico e prognóstico das doenças cardíacas, principalmente as cardiomiopatias em humanos, cães e gatos (YONEZAWA *et al.*, 2009). Os principais marcadores bioquímicos utilizados são os peptídeos natriuréticos atriais (ANP) e cerebrais (BNP), além das troponinas cardíacas (YONEZAWA *et al.*, 2009). Estes peptídeos têm sido indicados como possíveis marcadores de doenças cardíacas, como insuficiência cardíaca congestiva (ASANO *et al.*, 1999), cardiomiopatia dilatada (TANAKA *et al.*, 1994) e cardiomiopatia hipertrófica (FAHY *et al.*, 1996); as troponinas são marcadores altamente específicos de injúria celular (GODOY *et al.*, 1998), que atualmente são consideradas como os preferíveis de injúria cardíaca (O'BRIEN, 2008). A desmina também desempenha um papel importante no funcionamento normal do miocárdio (Janus *et al.*, 2016), e apresenta um padrão de marcação específico para o desarranjo das fibras musculares cardíacas (D'AMATI *et al.*, 1992; HAYMAN *et al.*, 2000). Adicionalmente, diversas pesquisas ainda estão sendo desenvolvidas na tentativa de estabelecer padrões histológicos que auxiliem no diagnóstico e estabelecimento do prognóstico. Em casos de morte súbita, o

exame anatomopatológico é fundamental no diagnóstico das cardiomiopatias como causa de óbito em humanos e animais (RADU *et al.*, 2012).

No Brasil são raros os trabalhos publicados sobre as doenças cardiovasculares em cães e gatos, e os dados epidemiológicos, patológicos e imuno-histoquímicos das principais doenças deste sistema são escassos. Desta maneira, acredita-se que a determinação da frequência das doenças cardiovasculares de cães e gatos diagnosticados pelo Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) através da análise patológica e imuno-histoquímica faz-se essencial para a melhor compreensão destas doenças. Estas informações podem ser úteis para a otimização de medidas de prevenção, tratamento e diagnóstico. Dessa forma, este trabalho teve os seguintes objetivos: (1) determinar a frequência e os tipos de cardiomiopatias diagnosticadas em gatos através da análise das características macroscópicas e microscópicas; (2) descrever as características patológicas e imuno-histoquímicas cardiovasculares em gatos com hipertrofia cardíaca e diagnósticos de neoplasmas das glândulas endócrinas concomitantes; (3) descrever as características patológicas e imuno-histoquímicas cardiovasculares observadas em cães com feocromocitomas, e (4) determinar os dados epidemiológicos e patológicos de cães acometidos por doenças congênitas cardiovasculares no SPV-UFRGS.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Estruturas e funções cardiovasculares

O coração é um órgão cônico e muscular que nos mamíferos caracteriza-se por uma bomba de quatro câmaras e quatro válvulas. Anatomicamente, o coração se localiza no interior da cavidade torácica, especificamente na região do mediastino (OCARINO *et al.*, 2016). O sistema vascular é subdividido em segmentos arterial, capilar, venoso e linfático (MILLER; GAL, 2017). O sistema cardiovascular é constituído por estruturas que proporcionam o bombeamento, o transporte e a distribuição de substâncias essenciais à demanda metabólica do organismo. As principais funções do sistema cardiovascular são: distribuir oxigênio e remover o gás carbônico e os metabólitos dos tecidos, distribuição de hormônios, manter o fluxo sanguíneo para os tecidos, além da manutenção da termorregulação (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; MILLER; GAL, 2017).

Nos mamíferos, o coração é constituído por átrios direito e esquerdo e ventrículos direito e esquerdo, além das válvulas atrioventriculares (mitral e tricúspide) e semilunares (aórtica e pulmonar) (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; MILLER; GAL, 2017). As válvulas atrioventriculares são suportadas por cordas tendíneas e músculos papilares dos ventrículos, e tem a função de permitir o fluxo sanguíneo dos átrios para os ventrículos e evitar o refluxo. As válvulas semilunares pulmonar e aórtica permitem o fluxo para a artéria pulmonar e aorta, respectivamente, além de evitar o refluxo para os ventrículos (ROBINSON; ROBINSON, 2016). Esse órgão é formado por três túnicas, no qual o endocárdio corresponde a camada mais interna, o miocárdio a média e a externa representada pelo epicárdio (OCARINO *et al.*, 2016). Toda a superfície da cavidade pericárdica é coberta pelo mesotélio. Estruturalmente, o coração contém quatro vasos sanguíneos principais: aorta, artéria pulmonar, veia cava e veia pulmonar (MILLER; GAL, 2017). O coração está dentro de um saco fibroelástico chamado pericárdio, que contém discreta quantidade de fluído seroso que lubrifica que possibilita o deslizamento entre as porções visceral e parietal durante os movimentos de sístole e diástole (ROBINSON; ROBINSON, 2016). O peso do coração varia com a espécie, estado nutricional, idade, nível de aptidão do animal e sexo, porém a média varia de 0,3 a 0,8% do peso corporal em animais jovens e adultos (ROBINSON; ROBINSON, 2016). O bombeamento mecânico é composto de contração (sístole) e relaxamento (diástole) que deve ser precedida por um processo eletrofisiológico que resulta em contrações musculares (MILLER; GAL, 2017). O coração apresenta um sistema especializado de atividade elétrica responsável pela contração do músculo cardíaco. Esse

sistema é caracterizado por um sistema autônomo e especializado representado pelos nodos sinoatrial e atrioventricular, feixes de His e fibras de Purkinje (OCARINO *et al.*, 2016; MILLER; GAL, 2017).

O miocárdio consiste em células musculares estriadas (miócitos cardíacos ou cardiomiócitos), que são rodeadas por uma estrutura de tecido conjuntivo bem vascularizada. As células do músculo cardíaco podem ser divididas em duas populações: os miócitos e as fibras especializadas do sistema de condução (MILLER; GAL, 2017). Os miócitos estão intimamente unidos por meio de junções intercelulares complexas (discos intercalares). Cada cardiomiócito consiste em um único núcleo central; mitocôndria; abundantes elementos contráteis (miofibrilas); retículo sarcoplasmático; e a membrana celular (sarcolema) e túbulos T necessários para a condução do impulso (ROBINSON; ROBINSON, 2016). O citoplasma (sarcoplasma) dos miócitos é amplamente preenchido pelas proteínas contráteis organizadas em sarcômeros, as unidades contráteis repetidas da miofibrila, compostos predominantemente de actina, miosina, tropomiosina e troponina. A aparência estriada é o resultado da organização do sarcômero em bandas (MILLER; GAL, 2017).

As características morfológicas das células musculares cardíacas que formam tecidos de condução especializados variam em diferentes locais e entre as espécies animais, mas geralmente são células musculares nodais finas e ramificadas com miofibrilas escassas separadas por tecido conjuntivo altamente vascularizado. As fibras de Purkinje são diferenciadas por seus grandes diâmetros e sarcoplasma eosinofílico pálido abundante, rico em glicogênio e pobre em miofibrilas (MILLER; GAL, 2017).

O sistema vascular pode ser dividido em um sistema de entrega (o sistema arterial), uma rede de troca (a microcirculação) e um sistema de remoção (os sistemas venoso e linfático) (ROBINSON; ROBINSON, 2016). A superfície luminal de todos os vasos é revestida por células endoteliais cobrindo a lâmina basal. As paredes dos vasos são divididas em três camadas ou túnicas: íntima, média e adventícia (MILLER; GAL, 2017).

## **2.2 Principais doenças cardiovasculares não infecciosas de cães e gatos**

### **2.2.1 Alterações congênitas do sistema cardiovascular**

As alterações congênitas do coração e dos grandes vasos (ACCGV) são definidas como defeitos morfológicos associados ao nascimento (MACDONALD, 2006), e são as anomalias congênitas mais frequentes dos animais domésticos (OCARINO *et al.*, 2016). Diversos processos estão envolvidos na patogênese dessas alterações, como agentes tóxicos, físicos ou nutricionais (MILLER; GAL, 2017), porém em cães, são frequentemente

hereditários (ROBINSON; ROBINSON, 2016). Cães com raça são os mais acometidos (OLIVEIRA *et al.*, 2011), e isto provavelmente ocorre por questões de consanguinidade das raças. A gravidade dos sinais clínicos depende do grau da lesão, desta maneira, os indivíduos acometidos podem rapidamente apresentar sinais clínicos de insuficiência cardíaca ou morte súbita, ou podem chegar à idade adulta mesmo com deficiência funcional (OCARINO *et al.*, 2016). As ACCGV podem ser derivadas de falhas no fechamento das comunicações cardiovasculares fetais, como a persistência do ducto arterioso e defeitos nos septos atrial e interventricular; falhas no desenvolvimento valvular normal, como a estenose pulmonar e subaórtica; mau posicionamento de grandes vasos, como a persistência do arco aórtico direito e outras anomalias (MILLER; GAL, 2017). O reconhecimento precoce das ACCGV é de grande importância, pois fornece um prognóstico favorável, visto que algumas anomalias podem ser corrigidas cirurgicamente (DARKE, 1989; OLIVEIRA *et al.*, 2011). Em cães os principais defeitos cardiovasculares identificados são: persistência do ducto arterioso, estenose pulmonar e subaórtica, e persistência do arco aórtico direito (MILLER; GAL, 2017). Em gatos, defeito do septo interventricular e displasia valvular são as condições mais frequentes (TIDHOLM *et al.*, 2015).

A persistência do ducto arterioso é a alteração congênita mais comum em animais domésticos (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016), e em cães, ocorre principalmente em fêmeas (TIDHOLM, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 2011; MILLER; GAL, 2017). Macroscopicamente observa-se comunicação entre a aorta e a artéria pulmonar, sem a formação do *ligamentum arteriosum* com desvio de sangue do lado esquerdo para o direito (TIDHOLM, 1997; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; MILLER; GAL, 2017), com conseqüente dilatação da aorta e artéria pulmonar e hipertrofia das câmaras cardíacas. Há também dilatação atrial esquerda, devido ao aumento do fluxo sanguíneo oriundo dos pulmões (OCARINO *et al.*, 2016).

O defeito no septo atrial, também denominado de persistência do forame oval, está relacionado com a não oclusão do forame oval após o nascimento do animal (OCARINO *et al.*, 2016). À necropsia identifica-se um orifício de diâmetro variado comunicando os dois átrios com conseqüente dilatação do ventrículo direito (TIDHOLM, 1997). A principal conseqüência é o fluxo excessivo do átrio esquerdo para o direito, com sobrecarga de volume resultante no ventrículo direito e pressão venosa central elevada. Entretanto, as conseqüências do defeito irão depender do tamanho do orifício presente (ROBINSON; ROBINSON, 2016; MILLER; GAL, 2017).

O septo interventricular é constituído pelo desenvolvimento das porções membranosa

e muscular, que cursa com a oclusão da comunicação entre os dois ventrículos. A não oclusão resulta no defeito do septo interventricular (OCARINO *et al.*, 2016). Essa lesão é uma das principais ACCGV observadas em gatos (TIDHOLM *et al.*, 2015; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Na necropsia visualiza-se um orifício de tamanho variado no septo interventricular (TIDHOLM, 1997), com envolvimento predominante da porção membranosa, com conseqüente hipertrofia excêntrica do ventrículo esquerdo e hipertrofia concêntrica do ventrículo direito. Embora esse defeito ocorra mais comumente como uma alteração isolada, em muitas ocasiões observa-se uma combinação de defeitos, como ocorre na tetralogia de Fallot ou na persistência do ducto arterioso (ROBINSON; ROBINSON, 2016; MILLER; GAL, 2017).

Os principais defeitos relacionados com falhas no desenvolvimento valvular normal são a estenose pulmonar e subaórtica, e são considerados defeitos relativamente comuns em cães (TIDHOLM, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 2011; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016). A estenose pulmonar é mais comumente identificada em machos (TIDHOLM, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 2011) e tem caráter hereditário (ou suspeita) em diversas raças caninas, como Beagle, Bulldog inglês, Bulldog francês e Chihuahua (OLIVEIRA *et al.*, 2011; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Macroscopicamente, identifica-se estreitamento do lúmen da artéria pulmonar, devido à camada espessa de tecido conjuntivo fibroso abaixo das válvulas semilunares pulmonares, com conseqüente hipertrofia concêntrica do ventrículo direito e dilatação da artéria pulmonar, presentes devido ao aumento da pós-carga (TIDHOLM, 1997; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016). A estenose subaórtica é uma alteração congênita frequente em cães com caráter hereditário em algumas raças, como Pastor Alemão, Boxer, Weimaraner, Golden Retriever, Bull terrier inglês (TIDHOLM, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 2011; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016). À necropsia, identifica-se uma camada espessa de fibrose no ventrículo esquerdo abaixo das válvulas semilunares aórticas (TIDHOLM, 1997). O aumento da pós-carga no ventrículo esquerdo e o fluxo pós-estenótico turbulento produzem hipertrofia concêntrica compensatória do ventrículo envolvido e dilatação pós-estenótica da aorta. Histologicamente, o endocárdio acometido pode apresentar proliferação de tecido conjuntivo fibroso, deposição de mucina e metaplasia cartilaginosa (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016).

A persistência do arco aórtico direito é uma anomalia conhecida em cães e ocorre devido à persistência do quarto arco aórtico direito em vez do quarto arco aórtico esquerdo. A aorta se desenvolve a partir do quarto arco aórtico esquerdo em condições normais, fazendo

com que ela e o ducto arterioso fiquem do mesmo lado da traqueia e do esôfago. No defeito, o arco aórtico direito é quem se desenvolve, e a aorta fica então situada à direita do esôfago e da traqueia. Com a aorta nesta posição, o canal arterial (ligamento arterial), passa da aorta para a artéria pulmonar, envolve o esôfago e o comprime a traqueia, o que causa a dilatação da porção cranial esofágica (megaesôfago) e regurgitação (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Broncopneumonia por aspiração pode ser visualizada em cães com este defeito, e isso pode estar relacionado com a dificuldade de deglutição, decorrente a dilatação esofágica presente nessa alteração (MILLER; GAL, 2017).

Outras ACCGV importantes na rotina clínica e laboratorial de cães e gatos são: tetralogia de Fallot, fibroelastose endocárdica e displasia valvular (TIDHOLM, 1997). A tetralogia de Fallot é caracterizada por quatro defeitos distintos do coração: dextroposição da aorta, defeito do septo ventricular, estenose da artéria pulmonar e hipertrofia ventricular direita consequente da sobrecarga de pressão (TIDHOLM, 1997; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; MILLER; GAL, 2017). A lesão primária na tetralogia de Fallot é a obstrução ao fluxo do ventrículo direito (ROBINSON; ROBINSON, 2016). A intensidade de cada lesão determina a sua gravidade, entretanto, é um defeito frequentemente letal em cães e gatos, com morte logo após o nascimento. Sabe-se que a tetralogia de Fallot é uma consequência da alteração no septo interventricular e ao deslocamento do septo atrial, que gera superposição da aorta e obstrução do fluxo sanguíneo direito. A principal alteração fisiológica é o fato de aproximadamente 75% do sangue ser desviado dos pulmões e não ser oxigenado (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; MILLER; GAL, 2017). A fibroelastose endocárdica é uma alteração observada mais comumente em gatos das raças Siamês e Burmês. À macroscopia, o endocárdio encontra-se difusamente esbranquiçado e espesso, devido a proliferação de tecido fibroelástico, principalmente no ventrículo esquerdo. As lesões no gato ocorrem nas primeiras semanas de vida e podem cursar com sinais de insuficiência cardíaca. Embora sua etiologia seja desconhecida, a degeneração das fibras de Purkinje tem sido considerada um importante fator na ocorrência da lesão (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; MILLER; GAL, 2017). A displasia da válvula atrioventricular direita é um dos defeitos mais frequentes de gatos (ROBINSON; ROBINSON, 2016) e macroscopicamente, observa-se espessamento focal ou difuso dos folhetos (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; MILLER; GAL, 2017).

### 2.2.2 Cardiomiopatias em gatos

Cardiomiopatia é uma alteração cardíaca na qual a anormalidade primária se encontra no miocárdio (KIENLE, 2008). As cardiomiopatias são doenças cardíacas progressivas importantes em gatos, e que se assemelham à apresentação da doença em humanos (MILLER; GAL, 2017). Atualmente, na medicina humana, definiram-se estas patologias como um grupo diverso de doenças do músculo cardíaco, em que o miocárdio se encontra estrutural e funcionalmente alterado, na ausência de hipertensão, doenças das artérias coronárias e defeitos cardíacos congênitos (ELLIOTT *et al.*, 2008). São consideradas umas das mais importantes causas de insuficiência cardíaca em animais domésticos, também relacionadas à morte súbita (OLSEN; ALLEN, 2001), e são classificadas em primárias (idiopáticas), quando a origem ou a suspeita é genética, ou secundárias, de causa conhecida que não seja genética (FERASIN *et al.*, 2003; ROBINSON; ROBINSON, 2016; OCARINO *et al.*, 2016; MILLER; GAL, 2017). São subdivididas em três tipos morfológicos: cardiomiopatia hipertrófica (CMH), dilatada (CMD) e restritiva (CMR) (ROBINSON; ROBINSON, 2016).

A CMH caracteriza-se por hipertrofia acentuada do miocárdio com consequente diminuição da câmara ventricular (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Sua etiologia é desconhecida, contudo suspeita-se de um caráter autossômico recessivo (MILLER; GAL, 2017). Alterações endócrinas ou hipertensão também podem estar envolvidas na patogênese da forma secundária (LIU *et al.*, 1984; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Gatos com CMH podem apresentar-se sintomáticos ou assintomáticos, ou desenvolvem sinais clínicos após um evento estressante (DUNN *et al.*, 2001). Em muitas ocasiões, verifica-se tromboembolismo, consequente da obstrução na bifurcação da artéria aorta em artérias ilíacas internas (OCARINO *et al.*, 2016). Os gatos normalmente mantêm-se assintomáticos até que a doença evolua gravemente (MACDONALD *et al.*, 2008). O diagnóstico deve ser baseado em um histórico familiar, principalmente nas raças com transmissão hereditária estabelecida, como Maine Coons e Ragdolls (MEURS *et al.*, 2005), avaliação clínica e através do exame ecocardiográfico (HSU *et al.*, 2009). Em muitos casos ocorre morte súbita, e a necropsia torna-se fundamental para o diagnóstico da doença (OLSEN; ALLEN, 2001).

Macroscopicamente observa-se espessamento de ventrículo esquerdo, septos e músculos papilares com consequente redução da câmara cardíaca (ROBINSON; ROBINSON, 2016). Na microscopia, as lesões são caracterizadas por cardiomiócitos hipertrofiados, fibras com um arranjo entremeado em vez de paralelo, além de alterações



degenerativas dos cardiomiócitos associados à proliferação de tecido conjuntivo fibroso intersticial (D'AMATI *et al.*, 1992; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016).

A CMD é caracterizada pela dilatação das quatro câmaras cardíacas (MILLER; GAL, 2017). Em gatos tem sido associada à deficiência de taurina (OCARINO *et al.*, 2016), porém, a suplementação desse aminoácido na ração resultou em redução nos casos da CMD na população felina (MILLER; GAL, 2017). As lesões microscópicas podem ser inespecíficas, discretas ou ausentes, e são caracterizadas por fibrose intersticial, infiltração de adipócitos, degeneração de miócitos, incluindo a ocorrência do padrão conhecido como “fibras onduladas” (MILLER; GAL, 2017).

A CMR é caracterizada pela restrição do enchimento e da distensão ventricular devido à presença de acentuada quantidade de tecido fibroso localizado no endocárdio, principalmente do ventrículo esquerdo (OCARINO *et al.*, 2016). Sua etiologia é desconhecida (FOX, 2004), porém pesquisadores sugerem que a CMR seja uma consequência de uma endomiocardite causada principalmente por *Bartonella* sp. (ROBINSON; ROBINSON, 2016). Duas formas básicas são descritas no homem e conseqüentemente relatadas em gatos: a forma miocárdica e endocárdica, e são caracterizadas microscopicamente por acentuada fibrose (KIMURA *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016).

As cardiomiopatias que apresentam causas conhecidas não genéticas são classificadas como secundárias (FERASIN *et al.*, 2003; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Gatos com hipertireoidismo e hipertensão sistêmica podem apresentar hipertrofia cardíaca concêntrica, uma condição geralmente resultante da presença de hiperplasia ou adenoma de tireoide, e é reversível no retorno ao eutireoidismo (ROBINSON; ROBINSON, 2016).

### **2.2.3 Cardiomiopatia dilatada em cães**

A cardiomiopatia mais comumente diagnosticada em cães é a cardiomiopatia dilatada, caracterizada pela dilatação das câmaras cardíacas e disfunção sistólica e diastólica, no qual pode evoluir para uma insuficiência cardíaca congestiva (BORGARELLI *et al.*, 2001; TIDHOLM *et al.*, 2001). A doença acomete cães jovens a meia-idade, especialmente de raças grandes, como Boxer, São Bernardo, Doberman pinscher, Wolfhound irlandês e Dogue alemão (TIDHOLM *et al.*, 2001; ROBINSON; ROBINSON, 2016). A etiologia geralmente não é estabelecida; no entanto, várias causas foram propostas, incluindo fatores genéticos, tóxicos, deficiências nutricionais, distúrbios metabólicos, anormalidades imunológicas e

doenças infecciosas (TIDHOLM *et al.*, 2001; TIDHOLM; JÖNSSON, 2005; ROBINSON; ROBINSON, 2016).

Os sinais clínicos são caracterizados por tosse, depressão, dispneia, perda de peso, síncope e polidipsia. A apresentação clínica inclui sinais de insuficiência cardíaca congestiva do lado esquerdo ou biventricular, como dispneia causada por edema pulmonar e/ou efusão pleural e distensão abdominal, consequente da ascite (TIDHOLM; JÖNSSON, 1997; TIDHOLM; JÖNSSON, 2005). A cardiomiopatia dilatada pode ocorrer sem sinais evidentes ou causar morte súbita em cães (ROBINSON; ROBINSON, 2016). Cardiomegalia, congestão venosa pulmonar e edema pulmonar são os principais achados nos exames radiográficos (TIDHOLM; JÖNSSON, 2005).

À macroscopia, todas as câmaras, principalmente o ventrículo esquerdo, estão acentuadamente dilatadas (TIDHOLM; JÖNSSON, 1997). Histologicamente, a lesão característica é o aspecto ondulado das miofibras (TIDHOLM *et al.*, 2001; TIDHOLM; JÖNSSON, 2005). O diagnóstico etiológico *ante mortem* é difícil, e o prognóstico em cães é reservado (BORGARELLI *et al.*, 2001; TIDHOLM *et al.*, 2001).

#### **2.2.4 Cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito**

A cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito é uma variante da cardiomiopatia dilatada, é uma doença miocárdica de caráter hereditário, comumente identificada em cães da raça Boxer, que está associada com alta morbidade e risco de morte súbita (BASSO *et al.*, 2004; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Arritmias ventriculares, síncope, taquipneia e evolução para insuficiência cardíaca são os principais sinais clínicos identificados. Dilatação ventricular direita é o achado macroscópico mais importante (BASSO *et al.*, 2004; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Nesta condição, observa-se microscopicamente, infiltração de tecido fibro gorduroso entre os cardiomiócitos, que gera um consequente desarranjo do sistema de condução elétrico cardíaco (BASSO *et al.*, 2004; TIDHOLM; JÖNSSON, 2005; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Em gatos, a condição foi descrita e apresenta achados clínicos e patológicos semelhantes aos descritos em humanos e cães (FOX *et al.*, 2000).

#### **2.2.5 Endocardiose**

A endocardiose, também denominada de degeneração mixomatosa valvular, é uma importante doença de cães idosos. É considerada a lesão cardiovascular mais comum na espécie canina, com uma frequência de 75% de todas as doenças cardiovasculares em cães

(HAGGSTROM *et al.*, 2009; BORGARELLI; HAGGSTROM, 2010; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016). A prevalência da doença está correlacionada com a idade e raça (BORGARELLI; HAGGSTROM, 2010). Estudos descrevem predisposição das raças toy, pequenas e médias, especialmente machos (BUCHANAN, 1977; AUPPERLE *et al.*, 2009; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Essa condição ocorre mais frequentemente na válvula mitral (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016).

A etiopatogenia não é totalmente esclarecida, entretanto, ocorre deposição de glicosaminoglicanos associada à degeneração do colágeno da válvula, decorrente de herança poligênica (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016). Dada a natureza genética em algumas raças, a origem do aumento da tensão de tração nas válvulas pode ser o resultado da arquitetura anormal do complexo valvular (ROBINSON; ROBINSON, 2016). A patogênese inclui atividade proliferativa atípica, metabólica e enzimática de células endoteliais e estromais, resultando em uma diferenciação de células estromais em miofibroblastos e no acúmulo de mucopolissacarídeos, colágeno e fibras elásticas (BUCHANAN, 1977; KOGURE, 1980).

A válvula mitral é a mais comumente afetada (ROBINSON; ROBINSON, 2016) e macroscopicamente encontram-se encurtadas, firmes, esbranquiçadas e com a superfície lisa e brilhante, conseqüente do espessamento nodular. À histologia, visualiza-se deposição do tecido conjuntivo mixomatoso, no qual substitui a camada esponjosa da válvula (AUPPERLE *et al.*, 2009; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016). A arteriosclerose coronária intramural e necrose com conseqüente proliferação de tecido conjuntivo fibroso são comumente identificadas no miocárdio associada à hipertrofia ventricular esquerda (ROBINSON; ROBINSON, 2016). Em alguns casos identifica-se regurgitação na forma de estrias e placas focais elevadas de fibrose subendocárdica nos átrios (“lesões em jato”), além de rupturas atriais. Essas rupturas podem levar ao hemopericárdio. Pesquisadores relatam ainda, que a endocardiose está associada a dano endotelial intenso e proliferação concomitante de miofibroblastos ativados subjacentes (HAN *et al.*, 2013).

As conseqüências da endocardiose irão depender da intensidade do processo. Quando a lesão é discreta, não ocorre alteração significativa da função cardiovascular e é considerada um achado incidental (OCARINO *et al.*, 2016). Nessas ocasiões, a doença não progride para insuficiência cardíaca congestiva (BORGARELLI *et al.*, 2008); entretanto, se o processo degenerativo for intenso, ocorrem alterações funcionais da válvula e pode-se desenvolver insuficiência cardíaca (OCARINO *et al.*, 2016). O tempo de sobrevida nos pacientes que

evoluem para insuficiência cardíaca congestiva pode estar relacionado aos cuidados dos tutores, tratamento adequado, complicações cardiovasculares e presença de outras doenças concomitantes (BORGARELLI *et al.*, 2008; BORGARELLI; HAGGSTROM, 2010). Clinicamente, o sopro esquerdo sistólico em uma raça predisposta é fortemente sugestivo de endocardiose, porém, a confirmação ecocardiográfica é necessária para excluir outras doenças cardiovasculares (BORGARELLI; HAGGSTROM, 2010).

## **2.2.6 Necrose e degeneração miocárdicas**

### **2.2.6.1 Cardiotoxicose induzida por doxorubicina**

A doxorubicina é um agente antineoplásico usado no tratamento de diversas neoplasias em cães, entretanto, o principal efeito colateral da doxorubicina é a toxicidade cardíaca, sendo esta a principal limitação para seu uso (SOUZA *et al.*, 2009; ROBINSON; ROBINSON, 2016). A cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina pode ser classificada em aguda, crônica ou tardia (SOUZA *et al.*, 2009; RAJ *et al.*, 2014). A aguda ocorre na primeira semana após a administração do fármaco, a crônica até um ano após o término do tratamento e a tardia se desenvolve anos após a conclusão da terapia (RAJ *et al.*, 2014). A cardiotoxicose aguda parece ser mediada por lesão peroxidativa ou expressão de citocinas, e a forma crônica pode ser causada pela diminuição da síntese proteica e ocorre em cães que receberam doses cumulativas. As alterações microscópicas do miocárdio consistem em degeneração vacuolar e necrose de cardiomiócitos, atrofia miofibrilar e fibrose (ROBINSON; ROBINSON, 2016). A síndrome que resulta do efeito cardiotóxico da doxorubicina é clinicamente caracterizada por insuficiência cardíaca congestiva, hipotensão, alterações eletrocardiográficas, arritmias e morte súbita (HANAI *et al.*, 1996; SILVA; CAMACHO, 2005).

### **2.2.6.2 Necrose miocárdica induzida por catecolaminas**

Os feocromocitomas funcionais estão associados à ocorrência de alterações cardiovasculares relacionadas à secreção excessiva de catecolaminas (EDMONDSON *et al.*, 2015). A patogênese da cardiomiopatia induzida por catecolaminas é multifatorial e a combinação de fatores produz uma variedade de manifestações clínicas e patológicas (KASSIM *et al.*, 2008; LANGE; HILLIS, 2012). O mecanismo exato do efeito das catecolaminas no miocárdio é desconhecido, porém sugere-se um efeito tóxico direto (ROBINSON; ROBINSON, 2016). Os níveis elevados de catecolaminas e seus produtos aumentam a permeabilidade da membrana sarcolemal com aumento de cálcio intracelular e consequente necrose dos cardiomiócitos (KASSIM *et al.*, 2008; ADAMEOVA *et al.*, 2009;

LANGE; HILLIS, 2012). A hipertensão sistêmica, diminuição da suplementação de oxigênio ao miocárdio e hipóxia devido à vasoconstrição arterial coronariana também são fatores importantes no desenvolvimento de lesões cardiovasculares (ADAMEOVA *et al.*, 2009; LANGE; HILLIS, 2012). Além disso, o excesso de catecolaminas aumenta a frequência cardíaca e a força das contrações, aumenta a demanda de oxigênio e hemodinâmica do miocárdio, leva ao aumento da pós-carga cardíaca e gera estresse oxidativo (ADAMEOVA *et al.*, 2009). A necrose de cardiomiócitos, frequentemente com bandas de contração, fibrose intersticial, infiltrado inflamatório e espessamento da parede dos vasos sanguíneos são achados histológicos frequentes em pacientes com cardiomiopatias relacionadas ao feocromocitoma funcional (KASSIM *et al.*, 2008; JENKINS *et al.*, 2010; MAK; ALLEN, 2013; MIURA *et al.*, 2017).

### 2.2.7 Neoplasmas

Os neoplasmas primários do coração são considerados raros nos animais domésticos, porém, metástases com envolvimento do sistema cardiovascular são relativamente comuns em cães e gatos (WALTER; RUDOLPH, 1996; MESQUITA *et al.*, 2012; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017). Neoplasmas cardíacos primários são identificados mais em cães do que gatos, acometem animais de meia-idade e de raças grandes, sem predileção sexual evidente (AUPPERLE *et al.*, 2007; MESQUITA *et al.*, 2012). Os sinais clínicos são muito variáveis, o que pode dificultar o diagnóstico clínico (KISSEBERTH, 2001). Frequentemente o quadro clínico está relacionado com a localização anatômica do neoplasma e não com sua classificação histológica. Sopros e arritmias são sinais cardíacos que podem ser identificados através do exame físico (KISSEBERTH, 2001; AUPPERLE *et al.*, 2007).

O hemangiossarcoma é um neoplasma maligno derivado das células endoteliais, considerado o neoplasma primário do coração mais frequente em cães e geralmente acomete o átrio direito (WALTER; RUDOLPH, 1996; WARE; HOPPER, 1999; OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017). Metástases no coração também ocorrem em casos que o sítio primário é originado no baço ou pele (OCARINO *et al.*, 2016). Origem multicêntrica também é identificada em alguns casos. (MESQUITA *et al.*, 2012). À macroscopia, são caracterizados por nódulos não delimitados e irregulares, vermelhos escuros, friáveis e com aspecto sanguinolento (OCARINO *et al.*, 2016; ROBINSON; ROBINSON, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017). À histologia, observa-se proliferação de células endoteliais fusiformes que formam quantidade variável de

espaços preenchidos por hemácias e que frequentemente se infiltram entre as miofibras cardíacas. O pleomorfismo celular e o índice mitótico são variáveis (COOPER; VALENTINE, 2017). Uma consequência importante relatada em casos de hemangiossarcoma com acometimento cardíaco é a ruptura do tumor, o que causa hemopericárdio e tamponamento cardíaco (OCARINO *et al.*, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017).

Os neoplasmas com origem das fibras musculares estriadas do coração são denominados de rabiomioma e rabiomiossarcoma, que são neoplasmas benignos e malignos, respectivamente (OCARINO *et al.*, 2016). São considerados neoplasmas raros em cães e gatos, portanto, os dados epidemiológicos são escassos e não conclusivos. Os sinais clínicos geralmente estão relacionados à disfunção cardíaca, porém, podem ser achados incidentais. Macroscopicamente, podem ser únicos ou múltiplos, esbranquiçados a acinzentados, firmes à palpação, bem delimitados, porém não encapsulados (COOPER; VALENTINE, 2017). Histologicamente, os rabiomiomas cardíacos são caracterizados por proliferação de grandes cardiomiócitos com citoplasma amplo eosinofílico e vacuolizado, núcleo grande com um ou dois nucléolos. Não são observadas figuras de mitose, entretanto, células binucleadas podem ser identificadas (OCARINO *et al.*, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017). Pesquisadores sugerem ainda que os rabiomiomas podem ser considerados hamartomas e não uma neoplasia. As células neoplásicas do rabiomiossarcoma são pleomórficas, redondas a fusiformes e com mitoses evidentes (COOPER; VALENTINE, 2017).

Os quimiodectomas são neoplasmas dos órgãos receptores que estão localizados na carótida e aorta, junto à base do coração (OCARINO *et al.*, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017). Embora se localizem externamente ao coração, os tumores do corpo aórtico e carotídeo são importantes devido à sua estreita proximidade com a base do coração e por suas consequências acometem principalmente o sistema cardiovascular. Estes tumores são incomuns em gatos e um pouco mais frequentes em cães (OCARINO *et al.*, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017). Os cães acometidos são idosos, e os machos parecem ter uma frequência maior quando comparado com as fêmeas (COOPER; VALENTINE, 2017). As raças braquiocefálicas apresentam uma predisposição considerável para o desenvolvimento provavelmente devido ao fator genético associado ao esforço respiratório crônico (OCARINO *et al.*, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017). Macroscopicamente, esses tumores podem ser caracterizados por nódulos únicos ou múltiplos, apresentam tamanhos variados, são esbranquiçados, firmes à palpação e estão localizadas na adventícia da aorta, próximo à inserção do saco pericárdico na base do coração (MESQUITA *et al.*, 2012; OCARINO *et al.*, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017). Histologicamente, as células

neoplásicas são cuboidais a poliédricas, dispostas em ninhos separados por discreto a moderado estroma de sustentação. As células frequentemente apresentam citoplasma eosinofílico finamente granular e núcleo central, com um pleomorfismo acentuado (MESQUITA *et al.*, 2012; COOPER; VALENTINE, 2017). Os animais podem apresentar sinais clínicos de descompensação cardíaca ou dificuldade de deglutição, devido à compressão do esôfago (AUPPERLE *et al.*, 2007; OCARINO *et al.*, 2016). O principal diagnóstico diferencial é o carcinoma ectópico de tireoide, em razão da localização semelhante (WALTER; RUDOLPH, 1996). Quando a análise histológica não é suficiente para o diagnóstico definitivo, a técnica de imuno-histoquímica auxilia na confirmação do diagnóstico com a utilização de anticorpos neuroendócrinos, como a cromogranina A e ausência imunorreação para tireoglobulina (MESQUITA *et al.*, 2012; COOPER; VALENTINE, 2017).

Outros neoplasmas primários do sistema cardiovascular menos frequentes e relatados em cães e gatos incluem: fibroma e fibrossarcoma (LOMBARD; GOLDSCHMIDT, 1980; MADARAME *et al.*, 2004), mesotelioma (OCARINO *et al.*, 2016), mixoma (MESQUITA *et al.*, 2012), neurofibroma e neurofibrossarcoma (AUPPERLE *et al.*, 2007; OCARINO *et al.*, 2016), osteossarcoma (WARMAN *et al.*, 2006), tumor de células granulares (SANFORD *et al.*, 1984) e tumor mesenquimal misto (MACHIDA *et al.*, 2003).

Em relação às metástases, o linfoma é o principal neoplasma metastático que acomete o coração de cães e gatos, e tem origem de qualquer tecido linfóide do organismo (MESQUITA *et al.*, 2012; OCARINO *et al.*, 2016). Os linfócitos neoplásicos podem invadir o miocárdio, com formação de áreas nodulares focais ou múltiplas, que podem ser delimitadas ou difusas, de coloração brancocenta e consistência friável a firme. Dependendo da extensão, o linfoma cardíaco pode causar morte por insuficiência cardíaca (OCARINO *et al.*, 2016; COOPER; VALENTINE, 2017). Outros tumores como os carcinomas mamários e pulmonares, comumente geram metástases para o coração (AUPPERLE *et al.*, 2007).

### **2.3 Marcadores imuno-histoquímicos utilizados no sistema cardiovascular**

São utilizados diversos marcadores funcionais e bioquímicos na tentativa de estabelecer o diagnóstico e prognóstico das doenças cardíacas, principalmente as cardiomiopatias em humanos, cães e gatos. Os principais marcadores bioquímicos utilizados são os peptídeos natriuréticos atriais (ANP) e cerebrais (BNP), além das troponinas cardíacas (YONEZAWA *et al.*, 2009).

O peptídeo natriurético atrial (ANP) e o peptídeo natriurético tipo B, ou também

denominado cerebral (BNP) são sintetizados a partir de precursores, proANP e proBNP, que são armazenados em grânulos do tecido atrial e em miócitos ventriculares, respectivamente (SISSON, 2004). São hormônios sintetizados pelos cardiomiócitos e responsáveis pela regulação da homeostase e da pressão arterial (MARTINEZ-RUMAYOR *et al.*, 2009). Estes peptídeos têm sido indicados como possíveis marcadores de doenças cardíacas, como insuficiência cardíaca congestiva (ASANO *et al.*, 1999), cardiomiopatia dilatada (TANAKA *et al.*, 1994) e cardiomiopatia hipertrófica (FAHY *et al.*, 1996). Os principais efeitos biológicos produzidos incluem a estimulação da natriurese e diurese, vasodilatação e inibição do sistema renina-angiotensina-aldosterona (HALL, 2005; BLAKE, 2018). A síntese e liberação do BNP pelos cardiomiócitos para a circulação aumentam em resposta ao estresse miocárdico causado por sobrecarga de volume, sobrecarga de pressão ou isquemia (BIONDO *et al.*, 2003).

As troponinas cardíacas são proteínas intracelulares que compõem o aparelho contrátil do miocárdio e são consideradas marcadores sensíveis e específicos de lesão muscular (GODOY *et al.*, 1998). Existem três formas diferentes de troponinas: I (cTnI), T (cTnT) e a cTnC. As duas primeiras formas são específicas para lesão miocárdica e diversos pesquisadores descrevem o aumento sérico, principalmente da cTnI, em gatos com cardiomiopatias primárias e secundárias (CONNOLLY *et al.*, 2003; CONNOLLY *et al.*, 2005; SANGSTER *et al.*, 2014). Em contraste, a troponina C cardíaca e a esquelética são estruturalmente iguais, o que torna esse biomarcador sérico não útil na rotina clínica (BLAKE, 2018).

A desmina desempenha um papel importante no funcionamento normal do miocárdio (JANUS *et al.*, 2016), e apresenta um padrão de marcação específico para o desarranjo das fibras musculares cardíacas (D'AMATI *et al.*, 1992; HAYMAN *et al.*, 2000).



### **3 RESULTADOS**

#### **3.1 Artigo 1**

Aspectos epidemiológicos e patológicos das cardiomiopatias em gatos no Sul do Brasil.

#### **3.2 Artigo 2**

Caracterização patológica e imuno-histoquímica da hipertrofia cardíaca em gatos com neoplasmas endócrinos

#### **3.3 Artigo 3**

Aspectos patológicos e avaliação imuno-histoquímica da troponina C no sistema cardiovascular de cães com feocromocitoma

#### **3.4 Artigo 4**

Alterações congênitas do coração e dos grandes vasos em cães.





### **3.1 Artigo 1**

#### **Aspectos epidemiológicos e patológicos das cardiomiopatias em gatos no Sul do Brasil**

Artigo publicado no periódico Pesquisa Veterinária Brasileira, volume 40, número 5.



## Epidemiological and pathological aspects of cardiomyopathies in cats in southern Brazil<sup>1</sup>

Fernando F. Argenta<sup>2</sup> , Lauren S. Mello<sup>2</sup>, Fernanda G. Cony<sup>2</sup>, Saulo P. Pavarini<sup>2</sup> ,  
David Driemeier<sup>2</sup>  and Luciana Sonne<sup>2\*</sup> 

**ABSTRACT.**- Argenta F.F., Mello L.S., Cony F.G., Pavarini S.P., Driemeier D. & Sonne L. 2020. **Epidemiological and pathological aspects of cardiomyopathies in cats in southern Brazil.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 40(5)389-398. Setor de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. E-mail: [lusonne@yahoo.com.br](mailto:lusonne@yahoo.com.br)

Cardiomyopathies are considered one of the most important causes of heart failure in cats and are subdivided into three main morphological types: hypertrophic (HCM), dilated (DCM), and restrictive (RCM). This study aimed to determine the frequency and types of cardiomyopathies in cats diagnosed in southern Brazil, with an emphasis on their epidemiological and pathological aspects. Necropsy reports filed in a veterinary pathology laboratory were reviewed, and cats diagnosed with cardiomyopathy were selected for the study. Animal identification data, history and clinical signs, and gross lesions, were reviewed and compiled. During the study period, 1,594 cat necropsies were performed, of which 72 (4.5%) comprised a diagnosis of cardiomyopathy. HCM was the most frequent followed by CMR and CMD, representing 77.8%, 12.5% and 9.7%, respectively. Age ranged from three months to 18 years, with a median age of seven years. In relation to sex, 62.5% were males and 37.5% females. In 76.4% of the cases, it affected cats without a breed defined. Restrictive mixed dyspnea and hydrothorax were the main signs or findings of the clinical examination. Sudden death and acute paresis of the pelvic limbs due to aortic thromboembolism have also been described. In HCM, myocardial thickening was observed, with a reduction in the ventricular chamber. Hypertrophy, disarray, and fibrosis of the myofibers were the main histological findings. In RCM, whitish and thickened endocardium was seen in most cases. DCM was characterized by dilated cardiac chambers, and microscopic examination revealed no significant findings. The main extra cardiac lesions revealed pulmonary edema and congestion, hydrothorax and chronic passive congestion of the liver. Cardiomyopathies are important causes of death in cats and should be included in the differential diagnosis of patients with cardio respiratory clinical signs and in cases related to sudden death and acute paresis of the pelvic limbs.

**INDEX TERMS:** Epidemiology, pathology, cardiomyopathy, cats, Brazil, felines, hypertrophic cardiomyopathy, dilated cardiomyopathy, restrictive cardiomyopathy.

**RESUMO.- [Aspectos epidemiológicos e patológicos das cardiomiopatias em gatos no Sul do Brasil.]** As cardiomiopatias são consideradas umas das mais importantes

causas de insuficiência cardíaca em gatos e são subdivididas morfológicamente em três principais tipos: cardiomiopatia hipertrófica (CMH), dilatada (CMD) e restritiva (CMR). Este trabalho teve como objetivo determinar a frequência e os tipos de cardiomiopatias em gatos diagnosticados no Sul do Brasil, abordando seus aspectos epidemiológicos e patológicos. Foram revisados os laudos de necropsias de gatos e selecionados para o estudo de diagnóstico de cardiomiopatia. Os dados referentes à identificação do animal, o histórico/

<sup>1</sup> Received on September 27, 2019.

Accepted for publication on December 26, 2019.

<sup>2</sup> Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Prédio 42505, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. \*Corresponding author: [lusonne@yahoo.com.br](mailto:lusonne@yahoo.com.br)

sinais clínicos e lesões macroscópicas foram revisados e compilados. No período estudado, foram realizadas 1.594 necropsias de gatos, destas, 72 (4,5%) compreenderam diagnóstico de cardiomiopatia. A CMH foi a mais frequente seguida pela CMR e CMD, representando 77,8%, 12,5% e 9,7%, respectivamente. A idade variou de três meses a 18 anos, com a idade mediana de sete anos. Em relação ao sexo, 62,5% eram machos e 37,5% fêmeas. Em 76,4% dos casos, afetou gatos sem raça definida. Dispneia mista restritiva e hidrotórax foram os principais sinais ou achados do exame clínico. Morte súbita e paresia aguda de membros pélvicos em razão do tromboembolismo aórtico também foram descritos. Na CMH, observou-se espessamento do miocárdio, com redução da câmara ventricular. Hipertrofia, desarranjo e fibrose das miofibras foram os principais achados histológicos. Na CMR, visualizou-se endocárdio esbranquiçado e espessado na maioria dos casos. A CMD caracterizou-se pela dilatação das câmaras cardíacas, e sem lesão histológica significante. As principais lesões extracardíacas encontradas foram edema e congestão pulmonares, hidrotórax e congestão passiva crônica do fígado. As cardiomiopatias são causas importantes de morte em gatos, devem ser incluídas no diagnóstico diferencial de pacientes com sinais clínicos cardiopulmonares e também em casos relacionados a morte súbita e paresia aguda dos membros pélvicos.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Epidemiologia, patologia, gatos, Brasil, felinos, cardiomiopatia hipertrófica, cardiomiopatia dilatada, cardiomiopatia restritiva.

## INTRODUCTION

Cardiomyopathies are important progressive heart diseases, especially in felines and canines, which resemble the presentation of the diseases in humans (Miller & Gal 2017). Cardiomyopathy is defined as a diverse group of heart muscle diseases, in which the myocardium is structurally and functionally altered (Elliott et al. 2008). Cardiomyopathies are considered one of the most important causes of heart failure in cats and are classified as primary when the origin or suspicion is genetic and secondary when there is a known cause that is not genetic (Robinson & Robinson 2016). Cardiomyopathies are further subdivided into three main morphological types: hypertrophic (HCM), dilated (DCM), and restrictive (RCM) (Robinson & Robinson 2016). In HCM, myocardial hypertrophy of an unknown etiology is identified (Fox 2003), but an autosomal recessive genetic character is suspected in cats and humans (Meurs et al. 2005, 2007). CMD is characterized by the dilation of the four cardiac chambers (Robinson & Robinson 2016) and RCM by the restriction of ventricular filling and distention due to the large amount of fibrous connective tissue (Fox 2004, Kimura et al. 2016).

In cats, cardiomyopathies are the most frequent cardiovascular diseases and are important causes of deaths (Ferasin 2009a). In Brazil, there are few published data sources related to cardiomyopathies in this species. Therefore, this study aimed to determine the frequency and types of cardiomyopathies in cats diagnosed in southern Brazil, with an emphasis on their epidemiological and pathological aspects.

## MATERIALS AND METHODS

Necropsy reports filed in a veterinary pathology laboratory from January 2008 to December 2018 were reviewed, and cats diagnosed with cardiomyopathy were selected for the study. All cats in the study were from Rio Grande do Sul, Brazil, especially from the metropolitan region of Porto Alegre. The classification of cardiomyopathies was based on the morphological changes described by Robinson & Robinson (2016). Cases with a medical record or/and pathological features consistent with chronic renal failure, endocrine disorders, hypertension, myocarditis and neoplasms with cardiac involvement were excluded from the study. Animal identification data, such as breed, sex and age, history and clinical signs, and gross lesions were reviewed and compiled. From the selected cases, archived paraffin blocks were searched for the preparation of histological slides, for subsequent staining by hematoxylin and eosin (HE) techniques and visualization by optical microscopy. For the evaluation of the degree of fibrosis, histological sections of the heart were submitted to Masson's trichrome (MT) stain.

## RESULTS

From January 2008 to December 2018, 1,594 cat necropsies were reported, of which 72 were cardiomyopathic cases, representing 4.5% of the cases (respecting the exclusion criteria). Regarding the morphological classification, 77.8% were cases of HCM, 12.5% restrictive and 9.7% dilated. Age ranged from three months to 18 years, with a median age of seven years (mean age of 7.6 years). In relation to sex, 62.5% were males and 37.5% females. In 76.4% of the cases, it affected cats mixed breed, and 23.6%, cats with a defined breed, mainly Persian and Siamese. Clinical signs and/or physical examination findings were described in 57 cases and included: restrictive mixed dyspnea (45.6%), hydrothorax (33.3%), vomiting (29.8%), lethargy (28.1%), anorexia (21.1%) and cyanosis (18.5%). Acute paresis of the pelvic limbs was identified in 14%, and sudden death reported in 26.3% of cases. No significant changes were identified in the epidemiological data and clinical presentation regarding the morphological classifications of cardiomyopathies.

The hearts of cats with HCM were grossly enlarged, due to a marked thickening of the myocardium, predominantly of the left ventricle and interventricular septum, with a reduction in the left ventricular chamber (Fig.1A). Multifocal to coalescent whitish areas in the myocardium were visualized in 66.1% of the cases. Cardiac lesions secondary to myocardial thickening, such as right ventricular dilatation, left atrial dilatation and atrial thrombosis, were described in 33.9%, 28.6% and 8.9% of cases, respectively. Histologically, in 50% of HCM cases, lesions were identified in the left ventricle and interventricular septum; 41.1% only in the left ventricle, and 8.9% left and right ventricle, in addition to the interventricular septum. These lesions were mainly characterized by varying degrees of myofiber hypertrophy, multifocal disarray that is characterized by the interweaving of myofibers, and proliferation of interstitial myocardial multifocal fibrous connective tissue (fibrosis) (Fig.1B and 1C), evidenced mainly by the histochemical technique of MT (Fig.1D). Table 1 details the histological lesions in cats with HCM.

In RCM, the hearts were grossly enlarged, whitish and frequently globose. In 77.8% of cases, diffusely whitish and thickened endocardium was observed (Fig.2A). In the

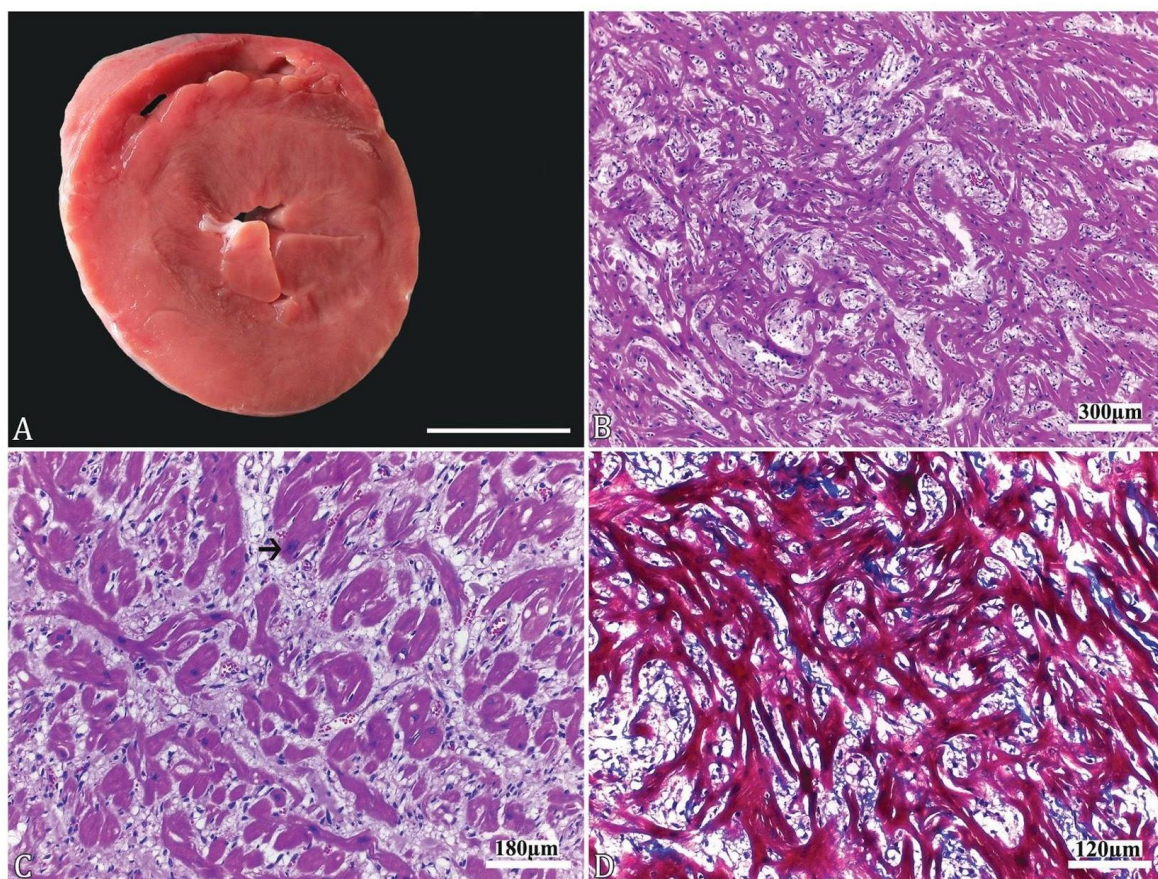


Fig. 1. Pathological aspects of hypertrophic cardiomyopathy in cats. (A) Cross-sectional view of the heart with thickening of the myocardium, predominantly of the left ventricle and interventricular septum, with consequent reduction of the left ventricular chamber. Bar = 2.0cm. (B) Left ventricular myocardium with hypertrophy and multifocal disarray characterized by interweaving of myofibers, associated with proliferation of the interstitial multifocal fibrous connective tissue (fibrosis). HE, bar = 300µm. (C) Left ventricular myocardium with hypertrophy, disarray and moderate interstitial multifocal fibrosis. Multifocal karyomegaly is also shown (arrow). HE, bar = 180µm. (D) Left ventricular myocardium with hypertrophy, disarray and blue-stained interstitial multifocal fibrosis. MT, bar = 120µm.

**Table 1. Histological lesions observed in the heart of cats with hypertrophic cardiomyopathy**

Histological lesion	Histological grade			
	Discrete	Moderate	Accentuated	No change
	n	n	n	n
Myofiber hypertrophy	18	23	10	5
Myofiber disarray	21	17	9	9
Myocardial fibrosis	24	13	5	14
Cardiomyocyte vacuolization	22	6	0	28
Vessel wall thickening	19	5	0	32
Cardiomyocyte karyomegaly	14	4	1	37
Cardiomyocyte necrosis	6	4	1	45
Inflammatory infiltrate in the myocardium	6	3	0	47
Myocardial adipocyte infiltrate	4	4	0	48
Multifocal mineralization	0	1	0	55

n = Number of cases.

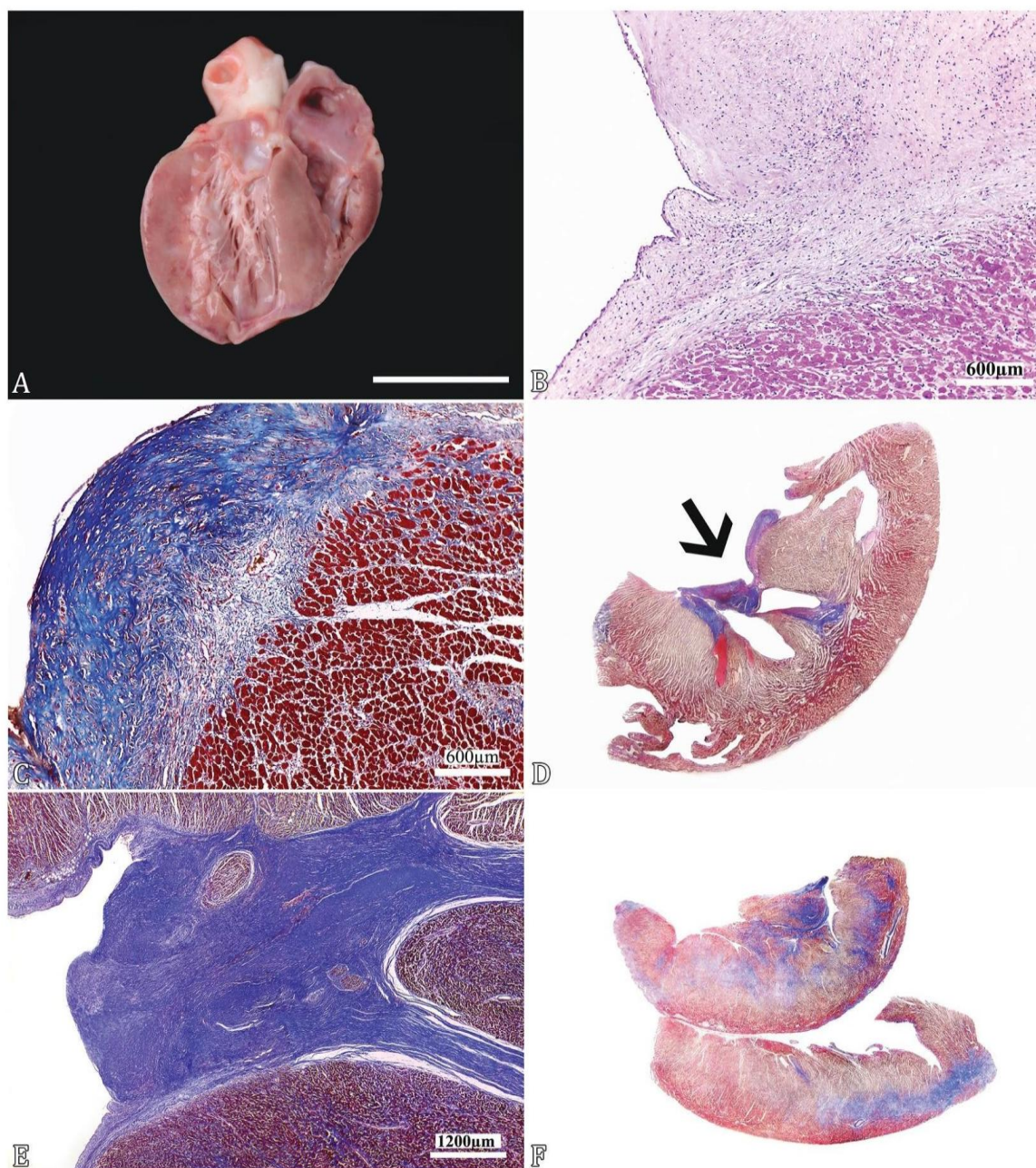


Fig.2. Pathological aspects of restrictive cardiomyopathy in cats. (A) Longitudinal section of the heart with whitish endocardium. Moderate left ventricular and interventricular septal hypertrophy associated with multifocal whitish areas in the myocardium. Bar = 4.5cm. (B) Thickened endocardial region resulting from intense fibrosis. HE, bar = 600 $\mu$ m. (C) Intense fibrosis in the endocardial region. MT, bar = 600 $\mu$ m. (D) Sub macroscopic aspect of restrictive cardiomyopathy in cats, with the formation of irregular trabeculae of fibrous connective tissue interconnecting the interventricular septum with the free wall of the left ventricle. MT. (E) Formation of trabeculae of fibrous connective tissue. MT, bar = 1200 $\mu$ m. (F) Sub macroscopic aspect of restrictive cardiomyopathy in cats with predominance of fibrosis in the myocardial region. MT.

remaining 22.2%, whitish irregular bands interconnecting the left ventricular free wall to the interventricular septum were visualized. Left ventricular and interventricular septal myocardial hypertrophy, right ventricular and left atrial dilatation, and atrial thrombosis were described in 66.7%, 55.6% and 11.1%, respectively. In 88.9% of the cases of RCM, lesions were microscopically identified in the left ventricle and interventricular septum, and in the remaining 11.1%, there were cases with histological lesions in the left atrium and ventricle, in addition to the septum. Intense multifocal to coalescent fibrosis in the endocardial region (Fig.2B), evidenced mainly by MT staining (Fig.2C), was identified in 66.7% of the cases. In cases with predominance of endocardial fibrosis, 22.2% had irregular bands of fibrosis interconnecting the left ventricular free wall to the interventricular septum (Fig.2D and 2E). Fibrosis presented the myocardial form in 33.3% of cases (Fig.2F). Other histological findings included: moderate hypertrophy and disarray of myofibers, and cardiomyocyte karyomegaly (55.6% each), mild inflammatory infiltrate of lymphocytes and plasma cells in the epicardium and myocardium (22.2%), discrete multifocal mineralization (22.2%) and focal endocardial cartilaginous metaplasia (11.1%).

Cats with DCM had enlarged and globose hearts due to dilation of the cardiac chambers, predominantly of the ventricles. The ventricular walls were thin and flaccid, with flattening of the papillary muscles (Fig.3). Histological lesions were observed in 14.3% of the cases, characterized by the discrete multifocal perivascular fibrosis in the left ventricular myocardium and a slight thinning of the cardiac fibers, which were multifocally wavy in the ventricles and interventricular septum.

The main extra cardiac lesions found in cats with cardiomyopathies were: varying degrees of pulmonary edema and congestion (94.4% and 69.4%, respectively) (Fig.4A), hydrothorax (50%), chronic passive hepatic congestion (44.4%) (Fig.4B) and cyanosis (26.4%) (Fig.4C and 4D). Thrombus located at the bifurcation of the aorta in internal iliac arteries was reported in 11.1% of cases. These cats had diminished, firm pelvic limb muscles with whitish multifocal areas. In 4.2% of cases observed, the extremities of the pelvic limbs, skin, and hair were dry, with multifocal areas of cutaneous continuity solution (gangrene) (Fig.4F). Table 2 details the extra cardiac lesions of cats with cardiomyopathy.

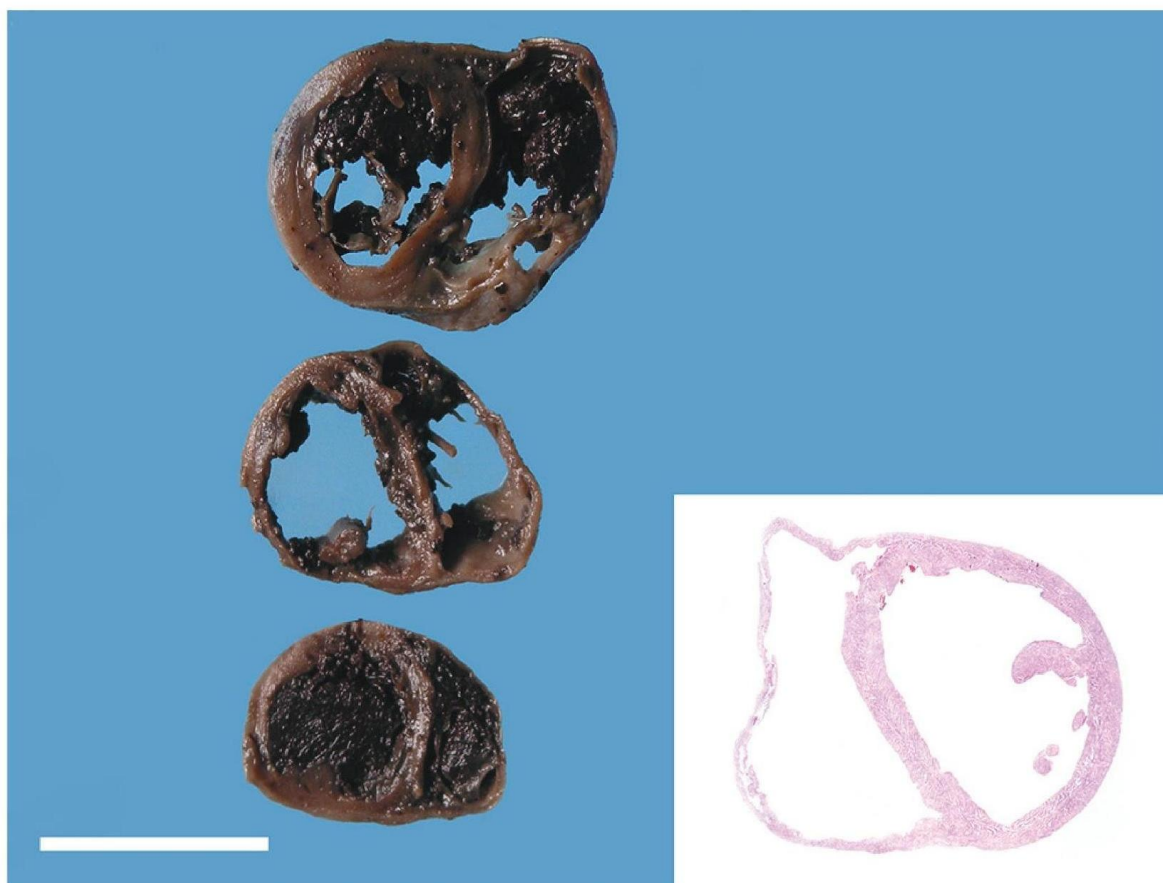
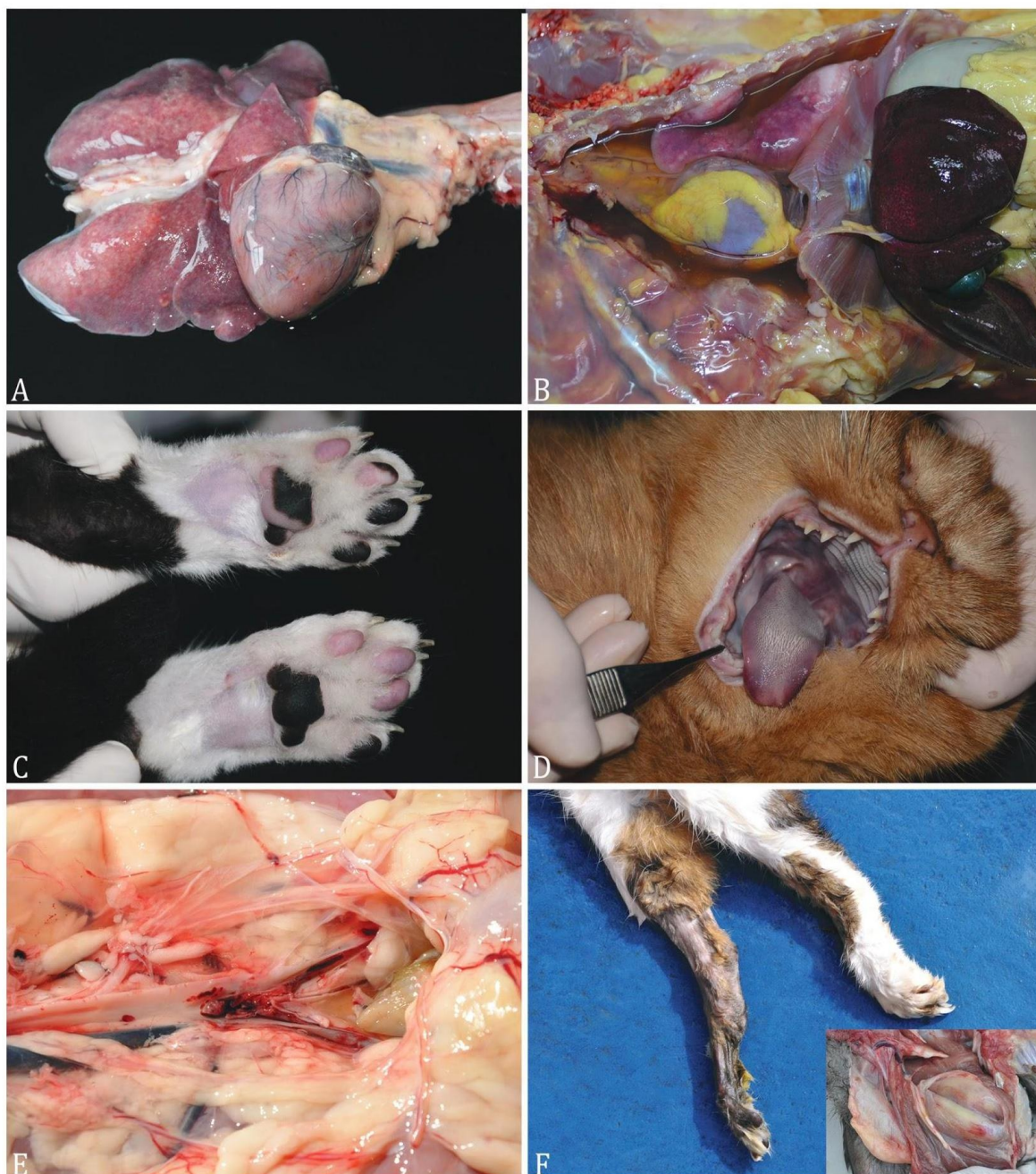


Fig.3. Gross and sub macroscopic aspects of dilated cardiomyopathy in cats. Ventricular dilatation, with thin and flaccid ventricular walls (10% formalin-fixed sample) Insert: sub macroscopic aspect, with intense ventricular dilatation. HE, bar = 2.0cm.



**Fig. 4.** Extra cardiac lesions in cats with cardiomyopathies. **(A)** Bright pleural surface lungs with red multifocal areas in a cat diagnosed with hypertrophic cardiomyopathy. **(B)** Thoracic cavity with large amount of free serous and yellowish fluid in the cavity associated with congestion and marked lobular pattern of the liver in a cat with hypertrophic cardiomyopathy. **(C)** Plantar surface of purplish-colored thoracic limbs in a cat with hypertrophic cardiomyopathy. **(D)** Purplish oral mucosa and tongue in a case of hypertrophic cardiomyopathy. **(E)** Thrombus located at the aorta artery bifurcation in the internal iliac arteries in a case of hypertrophic cardiomyopathy. **(F)** Extremities of pelvic limbs, skin and dry-looking hair with multifocal areas of cutaneous continuity solution in the same case as above. Insert: pelvic limb muscles with whitish multifocal areas.



**Table 2. Extra cardiac pathological lesions of cats with cardiomyopathy**

Lesion	Total (n = 72)	HCM (n = 56)	RCM (n = 9)	DCM (n = 7)
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Pulmonary edema	68 (94.4)	53 (94.6)	8 (88.9)	7 (100)
Pulmonary congestion	50 (69.4)	35 (62.5)	8 (88.9)	7 (100)
Hydrothorax	36 (50)	27 (48.2)	5 (55.6)	4 (57.1)
Chronic passive congestion of the liver	32 (44.4)	26 (46.4)	3 (33.3)	3 (42.9)
Cyanosis	19 (26.4)	16 (28.6)	1 (11.1)	2 (28.6)
Ascites	15 (20.8)	9 (16.1)	4 (44.4)	2 (28.6)
Hydropericardium	14 (19.4)	10 (17.9)	3 (33.3)	1 (14.9)
Pulmonary atelectasis	12 (16.7)	10 (17.9)	2 (22.2)	0 (0)
Diffuse subcutaneous edema	8 (11.1)	7 (12.5)	1 (11.1)	0 (0)
Aortic thromboembolism	8 (11.1)	7 (12.5)	1 (11.1)	0 (0)
Bilateral nasal serous secretion	6 (8.3)	5 (8.9)	1 (11.1)	0 (0)
Gangrene of the pelvic limbs	3 (4.2)	3 (5.4)	0 (0)	0 (0)

n = Number of cases, HCM = hypertrophic cardiomyopathy, RCM = restrictive cardiomyopathy = DCM = cardiomyopathy dilated, % = percentage.

## DISCUSSION

In the present study, the frequency of cardiomyopathies observed in cats was 4.5%. In the literature, heart disease in cats was found to have a frequency of 4.2 to 5.7% (O'neill et al. 2014, Rodrigues et al. 2017). In studies of the causes of death and reasons for euthanasia, cardiomyopathies accounted for approximately 1% of total feline necropsies (Togni et al. 2018, Withoef et al. 2019). In cats, cardiomyopathies are the most frequent cardiovascular diseases and are important causes of death in the species (Ferasin 2009a). HCM is most commonly diagnosed, clinically and by *post mortem* examination (Atkins et al. 1992, Rush 1998, Riesen et al. 2007, Togni et al. 2018), followed by RCM and DCM (Ferasin et al. 2003, Locatelli et al. 2018). This corroborates the findings of the present study. In the past, DCM was the second most diagnosed form in cats; however, its decreased frequency over the years may be related to the supplementation of taurine in diets after the discovery of the association of this amino acid deficiency with this condition in cats (Pion et al. 1987, Ferasin et al. 2003).

Cats with cardiomyopathies present a wide variation in age range (Bright et al. 1992, Ferasin 2009a). Researchers describe that middle-aged cats are the most affected, with an average age ranging from four to 10 years (Atkins et al. 1992, Bright et al. 1992, Rush et al. 2002, Ferasin et al. 2003, Riesen et al. 2007, Ferasin 2009a, Payne et al. 2010, Biasato et al. 2015, Kimura et al. 2016, Spalla et al. 2016, Miller & Gal 2017, Locatelli et al. 2018). However, there are reports of two-month-old cats with HCM (Fujii et al. 2001), and in the present study it was possible to identify three-month-old cats diagnosed with cardiomyopathy. Cats of mixed breed were the most affected in the present study, as described in the literature (Ferasin et al. 2003, Spalla et al. 2016, Locatelli et al. 2018); however, these data may be related to the fact that these animals represented the majority of the feline population referred to in the pathology laboratory. In the present study, males represented more than 60% of cases, as identified by numerous researchers (Atkins et al. 1992, Bright et al. 1992, Riesen et al. 2007, Fox et al. 2014, Payne et al. 2015, Spalla et al. 2016, Locatelli et al. 2018); however, in the study by Ferasin et al. (2003), no significant sexual predisposition was identified. In human medicine, HCM patients have a MYBPC3 mutation, that is an abnormal phenotype that develops earlier

in men than in women (Christiaans et al. 2010), and this has also been reported in Maine Coon cats (Kittleson et al. 1999).

The clinical signs of felines with cardiomyopathies are varied (Ferasin 2009a), and in many cases are related to congestive heart failure (Ferasin et al. 2003, Abbott 2010). In general, the main clinical signs and/or findings of the clinical examinations in the present study were restrictive mixed dyspnea, hydrothorax, vomiting and lethargy, which are frequently described in the literature (Bright et al. 1992, Ferasin et al. 2003, Kimura et al. 2016). However, the clinical presentation did not differ significantly between cardiomyopathy classifications in cats (Ferasin et al. 2003). In addition to the clinical changes already described, some cats may be asymptomatic (Rush et al. 2002, Trehiou-Sechi et al. 2012, Payne et al. 2013) or experience sudden death (Abbott 2010, Trehiou-Sechi et al. 2012, Miller & Gal 2017). Heart disease is considered to be one of the most frequent causes of unexpected death in cats (Olsen & Allen 2001, Wilkie et al. 2015), and in the present study sudden death was reported in 15 cats. Stress is an important factor that can trigger or exacerbate clinical signs, or be related to sudden death, as there is a rapid release of catecholamines. This induces generalized vasoconstriction and increased cardiac output. In addition to stress, severe arrhythmias may be responsible for episodes of syncope and sudden death (Ferasin 2009a). Acute paresis of the pelvic limbs as a consequence of aortic thromboembolism in the aorta artery bifurcation in the internal iliac arteries were identified in eight cats of the present study, of which seven were diagnosed with HCM and one with RCM. Arterial thromboembolism is the most serious consequence of cardiomyopathies (Ferasin 2009a). Cats have aortic thromboembolism in 6% to 20% of cases of myocardial disease. The formation of this condition results from left atrial thrombosis, due to the change in blood flow (stagnant blood flow), which is released into the aorta with the consequent obstruction (Ferasin et al. 2003, Ferasin 2009a, Kimura et al. 2016, Ocarino et al. 2016, Robinson & Robinson 2016).

HCM causes a diastolic ventricular dysfunction, due to impaired ventricular filling, due to myocardial thickening, which makes the ventricle rigid, and not compliant (Ferasin 2009a, Robinson & Robinson 2016). The enlarged heart is

grossly observed as a consequence of ventricular hypertrophy, mainly on the left side, with reduction of ventricular lumen. Occasionally, both sides are affected (Fox 2003, Ferasin 2009a). These data corroborate the findings of the present study. According to Robinson & Robinson (2016), most cats present symmetrical hypertrophy, but in some cases there is asymmetrical septal thickening, where the ventricular septum is thicker than the free wall of the left ventricle. Atrial dilatation and thrombosis, as well as right ventricular dilatation resulting from predominantly left ventricular myocardial hypertrophy, are frequent in cases of HCM (Ferasin 2009a, Robinson & Robinson 2016, Miller & Gal 2017). The whitish areas visualized in the hearts of HCM used in the present study were related to multifocal fibrosis (Fox 2004, Ferasin 2009a).

The main histological lesions found in HCM were hypertrophied cardiomyocytes, fibers that are arranged in a disorganized pattern and varying degrees of fibrosis. These are findings that are frequently described in the literature (Fox 2003, Ferasin 2009b, Robinson & Robinson 2016). Hypertrophy is characterized as large cardiomyocytes, with enlarged and pleomorphic nuclei, and often prominent nucleoli (Fox 2003). Disarray is characterized by interweaving of the myofibers (Maron et al. 1981, Liu et al. 1981) and researchers suggest that this alteration constitutes the gold standard for the histological diagnosis of HCM (Fox 2003, Biasato et al. 2015). Proliferation of smooth muscle and connective tissue of the coronary vessel wall, fat infiltration, inflammatory infiltrate, degeneration and necrosis of cardiomyocytes are also described in HCM (Ferasin 2009b, Khor et al. 2015, Wilkie et al. 2015), and were frequent in the microscopic evaluation of the present study. Disarray of myofibers may predispose towards ischemia and, consequently, myocardial fibrosis, as disorganized cardiomyocytes promote insufficient contraction and increased energy demand (Iida et al. 1998, Varnava et al. 2001, Cesta et al. 2005). Narrowing of intramural coronary arteries may also contribute to the development of myocardial ischemia in these cases (Maron & Spirito 1998, Cesta et al. 2005).

RCM is characterized by impaired ventricular diastolic filling, due to increased stiffness of the heart muscle caused by intense endomyocardial fibrosis (Kushwaha et al. 1997, Ferasin et al. 2003, Fox 2004). In the present study, an increase in cardiac volume was grossly observed as a consequence of ventricular and atrial dilatations. This was mainly associated with diffuse whitish and thickened endocardium. Several researchers report that there are two morphological patterns of endomyocardial fibrosis, although a degree of feature overlap may occur (Fox 2004). Diffusely thickened and whitish endocardium or irregular trabeculae may be observed connecting the interventricular septum to the left ventricular free wall (Fox 2004, Ferasin 2009b, Kimura et al. 2016, Miller & Gal 2017). Trabeculae formation is the most common presentation of RCM in cats (Fox 2004, Kimura et al. 2016), but in the present study this presentation was less common than the diffuse form. Atrial enlargement, multiple whitish areas resulting from fibrosis and left ventricular myocardial hypertrophy, are frequent gross findings (Ferasin et al. 2003, Fox 2004, Ferasin 2009b, Ocarino et al. 2016, Locatelli et al. 2018). Aortic thromboembolism may occur in RCM, resulting from left atrial and ventricular filling defects and thrombus formation (Fox 2004, Kimura et al. 2016). This condition is

subdivided into two forms: endomyocardial, when predominant endocardial lesions are observed, and myocardial form, with predominant myocardial involvement (Gallo & D'amati 2001, Fox 2004, Kimura et al. 2016). Researchers report that the endomyocardial form is more commonly found in cats (Ferasin et al. 2003, Fox 2004, Kimura et al. 2016), as is also identified in the present study.

Fibrosis was observed microscopically, predominantly in the endocardium, with cases involving the left ventricular myocardium, interventricular septum and left atrium. The characteristic lesion of CMR is a marked endocardial thickening due to fibrosis (Fox 2004, Ferasin 2009b, Kimura et al. 2016). In many cases, myocardial interstitial fibrosis is also evident (Fox 2004). Cardiomyocyte hypertrophy, mild inflammatory infiltrate and cartilaginous metaplasia were also histological findings identified in the present study and are described in the literature (Fox 2004, Kimura et al. 2016). In a study related to feline CMR cases, researchers suggested that false left ventricular tendons provide a framework for the development of irregular trabecular formation that connects the septum to the left ventricular free wall (Kimura et al. 2016).

DCM is characterized by systolic dysfunction as a result of lack of contractility, which results in bilateral congestive heart failure (Ferasin et al. 2003, Ocarino et al. 2016, Robinson & Robinson 2016). The hearts were grossly enlarged and globose as a result of the dilatation of all cardiac chambers, with thin and flaccid ventricular walls, and flattening of the papillary muscles. Similar data are described in the literature (Liu 1977, Tilley et al. 1977, Ferasin et al. 2003, Robinson & Robinson 2016). Histological lesions are often nonspecific, discrete or absent (Robinson & Robinson 2016, Miller & Gal 2017). In most of the diagnoses of DCM in the present study, no significant histological lesions were observed. These, when present, are characterized by discrete thinning of cardiac fibers, wavy fibers and fibrosis (Tilley et al. 1977, Robinson & Robinson 2016).

Pulmonary edema and congestion, hydrothorax and chronic passive congestion of the liver were frequent extra cardiac lesions. These changes are common in cases of heart failure in animals, and several researchers describe these findings in different classifications of cardiomyopathies in cats (Ferasin et al. 2003, Fox 2003, Payne et al. 2010, Kimura et al. 2016, Robinson & Robinson 2016). The formation of pulmonary edema, hydrothorax, ascites and hydropericardium occur mainly by increased hydrostatic pressure due to blood flow stasis in cats with cardiomyopathies (Robinson & Robinson 2016, López & Martinson 2017). Chronic passive congestion of the liver is also related to portal hypertension resulting from heart failure (Miller & Gal 2017). Cyanosis, in cases of heart failure, is due to deposition of unoxygenated hemoglobin in the mucosae (Miller & Zachary 2017) and was a relatively frequent finding in the cases of the present study.

Mutations in genes that encode proteins associated with the cardiac contraction process have been identified in cats with HCM (Robinson & Robinson 2016). In this condition, the hereditary character in the Maine Coon and Ragdoll breeds, and their relationship with genetic mutations, is documented (Meurs et al. 2005, Meurs et al. 2007, Robinson & Robinson 2016). Researchers report that endomyocarditis of viral, bacterial (*Bartonella* sp.) and immunomediated origin, or as a consequence of end-stage HCM, are the possible etiological

factors of feline RCM (Fox 2004, Cesta et al. 2005, Robinson & Robinson 2016). Feline parvovirus genomic material has been isolated from the hearts of cats with cardiomyopathy and myocarditis (Robinson & Robinson 2016). Furthermore, researchers have suggested the possible involvement of the feline immunodeficiency virus in cats with lymphocytic myocarditis and hypertrophic cardiomyopathy, although the cause and effect have not been well understood (Robinson & Robinson 2016, Rolim et al. 2016). In recent studies, no related viral agents have been identified in HCM and RCM (Kimura et al. 2016, McEndaffer et al. 2017). Genetic inheritance is suggested as the cause of idiopathic DCM and secondary DCM-related taurine deficiency in cats (Pion et al. 1987, Robinson & Robinson 2016, Miller & Gal 2017).

### CONCLUSIONS

Cardiomyopathies were related to the cause of death in 4.5% of cats referred for necropsy; HCM was the most frequent morphological classification, followed by RCM and DCM.

Cardiomyopathies showed great variation in age, consisted of predominantly affected cat mixed breed adult males with a median age of seven years.

Restrictive mixed dyspnea and hydrothorax were the major findings on clinical examination. Less frequently, cases of sudden death and acute paresis of the pelvic limbs due to aortic thromboembolism at the aorta artery bifurcation in the internal iliac arteries were reported.

Cats with HCM had myocardial thickening with consequent reduction in the ventricular chamber, which were histologically characterized by hypertrophy, disarray, and fibrosis.

In CMR, the endocardium was diffusely whitish and thickened, and was less common, forming irregular bands connecting the left ventricle to the interventricular septum.

Endocardial fibrosis was the predominant histological form of CMR. In CMD, the heart had dilated cardiac chambers, and microscopic examination revealed no significant findings.

The main extra cardiac lesions revealed pulmonary edema and congestion, hydrothorax and chronic passive congestion of the liver.

Cardiomyopathies are important causes of death in cats and should be included in the differential diagnosis of patients with cardio respiratory clinical signs and in cases related to sudden death and acute paresis of the pelvic limbs.

**Conflict of interest statement.**- The authors declare that they have no conflict of interest.

### REFERENCES

- Abbott J.A. 2010. Feline hypertrophic cardiomyopathy: an update. *Vet. Clin. N. Am., Small Anim. Pract.* 40(4):685-700. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.04.004>> <PMid:20610019>
- Atkins C.E., Gallo A.M., Kurzman I.D. & Cowen P. 1992. Risk factors, clinical signs, and survival in cats with a clinical diagnosis of idiopathic hypertrophic cardiomyopathy: 74 cases (1985-1989). *JAVMA* 201(4): 613-618. <PMid:1517140>
- Biasato I., Francescone L., La Rosa G. & Tursi M. 2015. Anatomopathological staging of feline hypertrophic cardiomyopathy through quantitative evaluation based on morphometric and histopathological data. *Res. Vet. Sci.* 102:136-141. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.08.004>> <PMid:26412533>
- Bright J.M., Golden A.L. & Daniel G.B. 1992. Feline hypertrophic cardiomyopathy: variations on a theme. *J. Small Anim. Pract.* 33(6):266-274. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.1992.tb01137.x>>
- Cesta M.F., Baty C.J., Keene B.W., Smoak I.W. & Malarkey D.E. 2005. Pathology of end-stage remodeling in a family of cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Vet. Pathol.* 42(4):458-467. <<http://dx.doi.org/10.1354/vp.42-4-458>> <PMid:16006605>
- Christiaans I., Birnie E., van Langen I.M., van Spaendonck-Zwarts K.Y., van Tintelen J.P., van den Berg M.P., Atsma D.E., Helderma-van den Enden A.T., Pinto Y.M., Hermans-van Ast J.F., Bonsel G.J. & Wilde A.A. 2010. The yield of risk stratification for sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy myosin-binding protein C gene mutation carriers: focus on predictive screening. *Eur. Heart J.* 31(7):842-848. <<http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehp539>> <PMid:20019025>
- Elliott P., Andersson B., Arbustini E., Bilinska Z., Cecchi F., Charron P., Dubourg O., Kühl U., Maisch B., McKenna W.J., Monserrat L., Pankuweit S., Rapezzi C., Seferovic P., Tavazzi L. & Keren A. 2008. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European society of cardiology working group on myocardial and pericardial diseases. *Eur. Heart J.* 29(2):270-276. <<http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehm342>> <PMid:17916581>
- Ferasin L. 2009a. Feline myocardial disease 1: classification, pathophysiology and clinical presentation. *J. Feline Med. Surg.* 11(1):3-13. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2008.11.008>> <PMid:19154970>
- Ferasin L. 2009b. Feline myocardial disease 2: diagnosis, prognosis and clinical management. *J. Feline Med. Surg.* 11(3):183-194. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2009.01.002>> <PMid:9237134>
- Ferasin L., Sturgess C.P., Cannon M.J., Caney S.M., Gruffydd-Jones T.J. & Wotton P.R. 2003. Feline idiopathic cardiomyopathy: a retrospective study of 106 cases (1994-2001). *J. Feline Med. Surg.* 5(3):151-159. <[http://dx.doi.org/10.1016/S1098-612X\(02\)00133-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1098-612X(02)00133-X)>
- Fox P.R. 2003. Hypertrophic cardiomyopathy. Clinical and pathologic correlates. *J. Vet. Cardiol.* 5(2):39-45. <[http://dx.doi.org/10.1016/S1760-2734\(06\)70051-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1760-2734(06)70051-0)> <PMid:19081364>
- Fox P.R. 2004. Endomyocardial fibrosis and restrictive cardiomyopathy: pathologic and clinical features. *J. Vet. Cardiol.* 6(1):25-31. <[http://dx.doi.org/10.1016/S1760-2734\(06\)70061-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1760-2734(06)70061-3)> <PMid:19083301>
- Fox P.R., Basso C., Thiene G. & Maron B.J. 2014. Spontaneously occurring restrictive nonhypertrophied cardiomyopathy in domestic cats: a new animal model of human disease. *Cardiovasc. Pathol.* 23(1):28-34. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carpath.2013.08.001>> <PMid:24035181>
- Fujii Y., Masuda Y., Takashima K., Ogasawara J., Machida N., Yamane Y., Chimura S., Awazu T., Yamane T. & Wakao Y. 2001. Hypertrophic cardiomyopathy in two kittens. *J. Vet. Med. Sci.* 63(5):583-585. <<http://dx.doi.org/10.1292/jvms.63.583>> <PMid:11411510>
- Gallo P. & D'amati G. 2001. Cardiomyopathies, p.285-325. In: Silver M.D., Gotlieb A.I. & Shoen F.I. (Eds), *Cardiovascular Pathology*. 3rd ed. Elsevier, New York.
- Iida K., Yutani C., Imakita M. & Ishibashi-Ueda H. 1998. Comparison of percentage area of myocardial fibrosis and disarray in patients with classical form and dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy. *J. Cardiol.* 32(3):173-180. <PMid:9783238>
- Khor K.H., Campbell F.E., Owen H., Shiels I.A. & Mills P.C. 2015. Myocardial collagen deposition and inflammatory cell infiltration in cats with pre-clinical hypertrophic cardiomyopathy. *Vet. J.* 203(2):161-168. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.11.018>> <PMid:25573453>
- Kimura Y., Karakama S., Hirakawa A., Tsuchiaka S., Kobayashi M. & Machida N. 2016. Pathological features and pathogenesis of the endomyocardial form of restrictive cardiomyopathy in cats. *J. Comp. Pathol.* 155(2/3):190-198. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2016.06.003>> <PMid:27392420>
- Kittleson M.D., Meurs K.M., Munro M.J., Kittleson J.A., Liu S.K., Pion P.D. & Towbin J.A. 1999. Familial hypertrophic cardiomyopathy in Maine Coon

- cats: an animal model of human disease. *Circulation* 99(24):3172-3180. <<http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.99.24.3172>> <PMid:10377082>
- Kushwaha S.S., Fallon J.T. & Fuster V. 1997. Restrictive cardiomyopathy. *N. Engl. J. Med.* 336(4):267-276. <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199701233360407>> <PMid:8995091>
- Liu S.K. 1977. Pathology of feline heart disease. *Vet. Clin. N. Am.* 7(2):323-339. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0091-0279\(77\)50033-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0091-0279(77)50033-0)> <PMid:325872>
- Liu S.K., Maron B.J. & Tilley L.P. 1981. Feline hypertrophic cardiomyopathy: gross anatomic and quantitative histologic features. *Am. Assoc. Pathol.* 102(3):388-395. <PMid:7193978>
- Locatelli C., Pradelli D., Campo G., Spalla I., Savarese A., Brambilla P.G. & Bussadori C. 2018. Survival and prognostic factors in cats with restrictive cardiomyopathy: a review of 90 cases. *J. Feline Med. Surg.* 20(12):1138-1143. <<http://dx.doi.org/10.1177/1098612X18755955>> <PMid:29451444>
- López A. & Martinson S.A. 2017. Respiratory system. In: Zachary J.F. (Ed.), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6.ed. Elsevier, St. Louis. 1394p.
- Maron B.J. & Spirito P. 1998. Implications of left ventricular remodeling in hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 81(11):1339-1344. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9149\(98\)00164-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9149(98)00164-7)> <PMid:9631972>
- Maron B.J., Anan T.J. & Roberts W.C. 1981. Quantitative analysis of the distribution of cardiac muscle cell disorganization in the left ventricular wall of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 63(4):882-894. <<http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.63.4.882>> <PMid:7193536>
- McEndaffer L., Molesan A., Erb H. & Kelly K. 2017. Feline panleukopenia virus is not associated with myocarditis or endomyocardial restrictive cardiomyopathy in cats. *Vet. Pathol.* 54(4):669-675. <<http://dx.doi.org/10.1177/0300985817695516>> <PMid:28622497>
- Meurs K.M., Norgard M.M., Ederer M.M., Hendrix K.P. & Kittleson M.D. 2007. A substitution mutation in the myosin binding protein C gene in ragdoll hypertrophic cardiomyopathy. *Genomics* 90(2):261-264. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeno.2007.04.007>> <PMid:17521870>
- Meurs K.M., Sanchez X., David R.M., Bowles N.E., Towbin J.A., Reiser P.J., Kittleson J.A., Munro M.J., Dryburgh K., Macdonald K.A. & Kittleson M.D. 2005. A cardiac myosin binding protein C mutation in the Maine Coon cat with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Hum. Mol. Genet.* 14(23):3587-3593. <<http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddi386>> <PMid:16236761>
- Miller L.M. & Gal A. 2017. Cardiovascular system and lymphatic vessels. In: Zachary J.F. (Ed.), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6th ed. Elsevier, St. Louis. 1394p.
- Miller L.M. & Zachary J.F. 2017. Mechanisms and morphology of cellular injury, adaptation, and death. In: Zachary J.F. (Ed.), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6th ed. Elsevier, St. Louis. 1394p.
- Ocarino N.M., Paixão T.A., Carvalho E.C.Q. & Gimeno E.J. 2016. Sistema cardiovascular. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds), *Patologia Veterinária*. 2ª ed. Roca, Rio de Janeiro. 856p.
- Olsen T.F. & Allen A.L. 2001. Causes of sudden and unexpected death in cats: a 10 year retrospective study. *Can. Vet. J.* 42(1):61-62. <PMid:11195527>
- O'Neill D.G., Church D.B., McGreevy P.D., Thomson P.C. & Brodbelt D.C. 2014. Longevity and mortality of cats attending primary care veterinary practices in England. *J. Feline Med. Surg.* 17(2):125-133. <<http://dx.doi.org/10.1177/1098612X14536176>> <PMid:24925771>
- Payne J., Luis Fuentes V., Boswood A., Connolly D., Koffas H. & Brodbelt D. 2010. Population characteristics and survival in 127 referred cats with hypertrophic cardiomyopathy (1997 to 2005). *J. Small Anim. Pract.* 51(10):540-547. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.2010.00989.x>> <PMid:21029098>
- Payne J.R., Borgeat K., Connolly D.J., Boswood A., Dennis S., Wagner T., Menaut P., Maerz I., Evans D., Simons V.E., Brodbelt D.C. & Luis Fuentes V. 2013. Prognostic indicators in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.* 27(6):1427-1436. <<http://dx.doi.org/10.1111/jvim.12215>> <PMid:24134821>
- Payne J.R., Brodbelt D.C. & Luis Fuentes V. 2015. Cardiomyopathy prevalence in 780 apparently healthy cats in rehoming centres (the CatScan study). *J. Vet. Cardiol.* 17(supl.1):244-257. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jvc.2015.03.008>> <PMid:26776583>
- Pion P.D., Kittleson M.D., Rogers Q.R. & Morris J.G. 1987. Myocardial failure in cats associated with low plasma taurine: a reversible cardiomyopathy. *Science* 237(4816):764-768. <<http://dx.doi.org/10.1126/science.3616607>> <PMid:3616607>
- Riesen S.C., Kovacevic A., Lombard C.W. & Amberger C. 2007. Prevalence of heart disease in symptomatic cats: an overview from 1998 to 2005. *Schweiz Arch. Tierheilkd.* 149(2):65-71. <<http://dx.doi.org/10.1024/0036-7281.149.2.65>> <PMid:17343132>
- Robinson W.F. & Robinson N.A. 2016. Cardiovascular system. In: Maxie M.G. (Ed.), *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Vol. 3. 6th ed. Elsevier, St. Louis. 572p.
- Rodrigues S.C., Moreira T.A., Nascimento F.G.O., Blanca W.T., Souza R.R. & Medeiros-Ronchi A.P. 2017. Causes of death of domestic cats in a veterinary hospital of Uberlândia, Minas Gerais state: a retrospective study. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 54(4):350-356. <<http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2017.125341>>
- Rolim V.M., Casagrande R.A., Wouters A.T., Driemeier D. & Pavarini S.P. 2016. Myocarditis caused by feline immunodeficiency virus in five cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Comp. Pathol.* 154(1):3-8. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.10.180>> <PMid:26797583>
- Rush J.E. 1998. Therapy of feline hypertrophic cardiomyopathy. *Vet. Clin. N. Am., Small Anim. Pract.* 28(6):1459-1479. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0195-5616\(98\)50132-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0195-5616(98)50132-5)> <PMid:10098248>
- Rush J.E., Freeman L.M., Fenolosa N.K. & Brown D.J. 2002. Population and survival characteristics of cats with hypertrophic cardiomyopathy: 260 cases (1990-1999). *JAVMA* 202(2):202-207. <<http://dx.doi.org/10.2460/javma.2002.220.202>> <PMid:12126131>
- Spalla I., Locatelli C., Riscuzzi G., Santagostino S., Cremaschi E. & Brambilla P. 2016. Survival in cats with primary and secondary cardiomyopathies. *J. Feline Med. Surg.* 18(6):501-509. <<http://dx.doi.org/10.1177/1098612X15588797>> <PMid:26058586>
- Tilley L.P., Liu S.K., Gilbertson S.R., Wagner B.M. & Lord P.F. 1977. Primary myocardial disease in the cat. A model for human cardiomyopathy. *Am. J. Pathol.* 86(3):493-522. <PMid:842611>
- Togni M., Curtis A., Vargas D.P., Kommers G.D., Irigoyen L.F. & Figuera R.A. 2018. Causas de morte e razões para eutanásia em gatos na Região Central do Rio Grande do Sul (1964-2013). *Pesq. Vet. Bras.* 38(4):741-750. <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5075>>
- Trehiou-Sechi E., Tissier R., Gouni V., Misbach C., Petit A.M., Balouka D., Sampedrano C.C., Castaignet M., Pouchelon J.L. & Chetboul V. 2012. Comparative echocardiographic and clinical features of hypertrophic cardiomyopathy in 5 breeds of cats: a retrospective analysis of 344 cases (2001-2011). *J. Vet. Intern. Med.* 26(3):532-541. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00906.x>> <PMid:22443341>
- Varnava A.M., Elliott P.M., Mahon N., Davies M.J. & McKenna W.J. 2001. Relation between myocyte disarray and outcome in hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 88(3):275-279. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9149\(01\)01640-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9149(01)01640-x)> <PMid:11472707>
- Wilkie L.J., Smith K. & Luis Fuentes V. 2015. Cardiac pathology findings in 252 cats presented for necropsy: a comparison of cats with unexpected death versus other deaths. *J. Vet. Cardiol.* 17(supl.1):S329-S340. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jvc.2015.09.006>> <PMid:26776590>
- Withoef J.A., Cristo T.G., Biezus G., Costa L.S., Dal Pont T.P., Freitas A.C., Traverso S.D. & Casagrande R.A. 2019. Causes of death and euthanasia in domestic cats in the Santa Catarina plateau (1995-2015). *Pesq. Vet. Bras.* 39(3):192-200. <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5814>>

### 3.2 Artigo 2

#### **Caracterização patológica e imuno-histoquímica da hipertrofia cardíaca em gatos com neoplasmas endócrinos**

Artigo a ser submetido para o periódico "*Journal of Comparative Pathology*".

**SPONTANEOUSLY ARISING DISEASE****Short title: Cardiovascular lesions in cats with endocrine neoplasms****Short running head: FF Argenta *et al*****Pathological and immunohistochemical characterization of cardiac hypertrophy in cats  
with endocrine neoplasms****Fernando F Argenta<sup>\*</sup>, Lauren S de Mello<sup>\*</sup>, Fernanda G Cony<sup>\*</sup>, Marcele B Bandinelli<sup>\*</sup>,  
Rochana Rodrigues<sup>†</sup>, Fernanda V A da Costa<sup>†</sup>, Saulo P Pavarini<sup>\*</sup>, David Driemeier<sup>\*</sup>,  
Luciana Sonne<sup>\*</sup>**

*<sup>\*</sup>Setor de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. <sup>†</sup>Departamento de Medicina Animal, UFRGS, Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil.*

Correspondence to: F.F. Argenta (e-mail: nando.arg83@gmail.com).

## Resumo

Este trabalho caracterizou os aspectos macro e microscópicos do sistema cardiovascular de gatos com neoplasias endócrinas no Sul do Brasil, e avaliou as expressões imuno-histoquímicas para os anticorpos peptídeo natriurético tipo B (cerebral) (BNP), desmina, e troponina C cardíaca humana (cTnC) no miocárdio ventricular esquerdo. No período estudado, foram realizadas 917 necropsias de gatos. Dessas, 39 apresentavam diagnósticos de neoplasmas endócrinos, e em 20 gatos foi identificada a hipertrofia cardíaca concomitante. Os diagnósticos endócrinos foram: adenoma folicular de tireoide, carcinoma folicular de tireoide, adenoma da cortical da adrenal e um caso de lesão endócrina múltipla, caracterizada por adenoma de tireoide concomitante ao feocromocitoma. Macroscopicamente, o coração estava aumentado e globoso em razão do espessamento do miocárdio, com consequente redução da câmara ventricular esquerda. Histologicamente, as principais achados foram hipertrofia e desorganização de cardiomiócitos e fibrose. Na avaliação IHQ para BNP, mais da metade dos gatos apresentaram marcação moderada nos cardiomiócitos. Em relação ao anticorpo cTnC, áreas com diminuição ou ausência de marcação em cardiomiócitos foram identificadas na metade dos casos. Na análise para a desmina, observou-se em todos os casos áreas multifocais a coalescentes com diminuição e/ou ausência da imunoexpressão nos discos intercalares e nas estriações transversais dos cardiomiócitos. O uso dos marcadores imuno-histoquímicos BNP, cTnC e desmina serviu como uma ferramenta útil para auxiliar na detecção de lesões cardíacas.

*Palavras-chave:* felinos, imuno-histoquímica, cardiomiopatia, tireoide, adrenal, BNP, troponina, desmina.

## Introdução

As cardiomiopatias são consideradas causas importantes de insuficiência cardíaca em gatos e são classificadas em primárias (origem ou suspeita genética) ou secundárias (causa conhecida e não genética) (Robinson e Robinson, 2016). A hipertrofia do miocárdio é comumente observada em gatos com hipertireoidismo, decorrente do neoplasma funcional de tireoide, onde se observa autonomia do crescimento celular e aumento de tri-iodotironina ( $T_3$ ) e tiroxina ( $T_4$ ) séricos, que causam efeitos diretos e indiretos no sistema cardiovascular (Leav *et al.*, 1976; Gerber *et al.*, 1994; Scott-Moncrieff, 2012; Rosol e Meuten, 2017; Robinson e Robinson, 2016; Watson *et al.*, 2018; Kormpou *et al.*, 2020). A fisiopatologia exata não é totalmente esclarecida e vários mecanismos podem estar envolvidos. Os efeitos cardíacos podem ser consequentes do alto débito, induzido em parte por uma maior demanda de perfusão tecidual para atender às necessidades de maior metabolismo e aumento do consumo periférico de oxigênio, que gera um aumento na contratilidade cardíaca (Liu *et al.*, 1984; Salisbury, 1991; Syme, 2007). Ainda, a ação direta do  $T_3$  e  $T_4$  no miocárdio, aumento do número ou afinidade do receptor adrenérgico miocárdico e diminuição da resistência vascular periférica, com consequente estimulação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, também são descritos como fatores envolvidos na hipertrofia cardíaca em indivíduos com tumores na tireoide (Liu *et al.*, 1984; Kobori *et al.*, 1999; Klein e Ojamaa, 2001; Kahaly e Dillmann, 2005; Robinson e Robinson, 2016).

Neoplasmas funcionais na adrenal também podem causar hipertrofia cardíaca (Schulman, 2010; Edmondson *et al.*, 2015; Rosol and Meuten, 2017). Os tumores que causam elevação dos níveis de aldosterona sérica cursam com hipertensão, pois esse hormônio induz à retenção de sódio e água, com consequente expansão de volume, aumento do tônus simpático, disfunção endotelial e aumento da resistência vascular sistêmica (MacKay *et al.*, 1999; Ash *et al.*, 2005; Schulman, 2010; Djajadiningrat-Laanen *et al.*, 2011; Jepson, 2011). A



hipertensão contribui para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, inicialmente considerada fisiológica e adaptativa, e ocorre como resultado do aumento da demanda cardíaca (Barreto-Chaves *et al.*, 2020). Outra neoplasia das adrenais associada a hipertrofia cardíaca é o feocromocitoma. Tumores funcionais podem resultar em produção elevada de catecolaminas e seus produtos que estão associados com hipertensão sistêmica, hipóxia devido à vasoconstrição arterial coronariana, aumento da frequência cardíaca, aumento da pós-carga cardíaca e geração de estresse oxidativo e diminuição da suplementação de oxigênio ao miocárdio, acarretando em lesões como hipertrofia e necrose cardíaca (Rona, 1985; Jiang e Downing, 1990; Jacob *et al.*, 1994; Kassim *et al.*, 2008; Adameova *et al.*, 2009; Lange e Hillis, 2012; Edmondson *et al.*, 2015).

A imuno-histoquímica (IHQ) é uma técnica importante para a detecção de lesões cardiovasculares em animais domésticos (Santos *et al.*, 2016). Peptídeos natriuréticos e troponinas cardíacas são marcadores funcionais e bioquímicos utilizados para tentar estabelecer um diagnóstico e prognóstico das cardiomiopatias, utilizado principalmente em humanos, cães e gatos (Yonezawa *et al.*, 2010). Os peptídeos são indicados como marcadores em casos de cardiomiopatia hipertrófica (Takemura *et al.*, 1991; Biondo *et al.*, 2003), e as troponinas são altamente específicas de lesão dos cardiomiócitos (O'Brien, 2008). A desmina também desempenha um papel importante no funcionamento normal do miocárdio (Janus *et al.*, 2016), e apresenta um padrão de marcação específico para o desarranjo das fibras musculares cardíacas (D'Amati *et al.*, 1992; Hayman *et al.*, 2000).

A relação entre os neoplasmas endócrinos e as alterações cardiovasculares é descrita na literatura humana e veterinária, principalmente em casos de hipertireoidismo, e geralmente apresentam uma abordagem clínica e laboratorial através de análises dos biomarcadores séricos e exames de imagem (Peterson *et al.*, 1983; Bond *et al.*, 1988; Thoday e Mooney, 1992; Dillmann, 2010; Sangster *et al.*, 2014; Watson *et al.*, 2018; Barreto-Chaves *et al.*,

2020; Kormpou *et al.*, 2020). Entretanto, dados relacionados às alterações patológicas em gatos com hipertrofia cardíaca concomitante às alterações endócrinas são escassos (Liu *et al.*, 1984). Portanto, este trabalho tem como objetivo a caracterização dos aspectos macroscópicos e microscópicos do sistema cardiovascular de gatos com neoplasmas endócrinos, além de avaliar as expressões imuno-histoquímicas para os anticorpos peptídeo natriurético tipo B (cerebral) (BNP), desmina, e troponina C cardíaca humana (cTnC) no miocárdio de gatos.

### **Material e métodos**

Os laudos de necropsias arquivados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul foram revisados no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2019, dos quais foram selecionados os gatos com diagnóstico patológico de neoplasmas endócrinos. O banco de dados foi pesquisado por casos com base na combinação de palavras-chave como “felinos”, “gatos”, “tireoide”, “adrenal”, “neoplasia” e “neoplasia endócrina”. No período estudado, foram realizadas 917 necropsias de gatos. Destas, 39 apresentavam diagnósticos de neoplasmas endócrinos (32 casos envolvendo a tireoide, seis casos de diagnóstico de neoplasma na adrenal, e um caso múltiplo) e em 20 gatos foi identificada a hipertrofia cardíaca concomitante. A classificação histológica dos neoplasmas foi determinada pelos achados histológicos descritos na literatura e o diagnóstico foi confirmado através do resultado prévio da IHQ, com a utilização de anticorpos específicos como tireoglobulina para tumores na tireoide e anticorpos neuroendócrinos para casos com envolvimento da adrenal (Rosol e Meuten, 2017). O diagnóstico mais comumente descrito nos casos com hipertrofia cardíaca foi o adenoma folicular de tireoide (17/20), seguido por carcinoma folicular de tireoide (1/20) e adenoma da cortical da adrenal (1/20). Foi identificado, ainda, um gato com lesão endócrina múltipla, caracterizada por feocromocitoma

e adenoma folicular de tireoide.

Os dados descritos nos laudos referentes a raça, sexo, idade, pressão arterial sistólica, peso corporal, lesões macroscópicas e microscópicas foram revisados e compilados. A pressão arterial sistólica foi classificada através do consenso descrito por Acierno *et al.* (2018). A dosagem sérica de T<sub>4</sub> total e as concentrações plasmáticas de creatinina e ureia foram informadas nas requisições por veterinários clínicos em sete e cinco casos, respectivamente. Um gato apresentou a descrição da concentração plasmática de potássio e relação aldosterona:renina plasmática na requisição de necropsia.

Durante a necropsia, o tamanho das tireoides foi pontuado em uma escala semelhante aos achados descritos por Norsworthy *et al.* (2002) e categorizados da seguinte forma: “1”, “2”, “3”, “4”, “5” e “6”, as tireoides com  $\leq 0,5$  cm, 0,75 cm, 1,0 cm, 1,5 cm, 2,0 cm e  $\geq 2,5$  cm de comprimento, respectivamente. Os corações foram pesados em uma balança de bancada para avaliar a proporção do peso do coração em relação ao peso corporal, conforme os dados descritos por Robinson e Robinson (2016). Amostras de múltiplos órgãos foram colhidas e fixadas em formalina a 10% por 48h, emblocadas em parafina e submetidas à técnica histológica de hematoxilina e eosina. Secções do ventrículo esquerdo foram submetidas à técnica de tricrômico de Masson (TM) para a avaliação do grau de proliferação de tecido conjuntivo (fibrose). As lesões histológicas foram avaliadas por dois patologistas e classificadas de acordo com a sua intensidade em: (-): não identificada, (+): leve, (++) moderada e (+++): acentuado.

Secções do ventrículo esquerdo foram submetidas à técnica de IHQ para os anticorpos: BNP, cTnC e desmina. Controles positivos foram inseridos simultaneamente, e consistiam em cortes histológicos do ventrículo e átrio esquerdos de três gatos adultos normotensos que apresentaram diagnóstico de politraumatismo na necropsia e não apresentavam lesões macroscópicas e microscópicas de endocrinopatia ou distúrbios

cardiovasculares evidentes. Como controle negativo, substituiu-se o anticorpo primário por um anticorpo irrelevante (Ramos-Vara e Miller, 2014). Também foram inseridas secções do ventrículo esquerdo de três gatos com diagnóstico de necropsia prévio de cardiomiopatia hipertrófica primária para uso como controle. O coração dos casos controle e de cardiomiopatia hipertrófica primária foram submetidos às avaliações macroscópicas e microscópicas idênticas aos dos gatos com diagnósticos de neoplasmas endócrinos. Na Tabela 1. estão descritos os protocolos imuno-histoquímicos aplicados. A reação IHQ para cada anticorpo foi avaliada por dois patologistas e foi utilizada uma avaliação semiquantitativa (estimada) da porcentagem de células positivas (BNP) ou com diminuição e/ou ausência de marcação (cTnC e desmina), e categorizada em: discreta: 5 a 20%; moderada: 21 a 50%; e acentuada: mais de 50% das células.

Como controle, foram inseridos três gatos com cardiomiopatia hipertrófica primária e de três gatos adultos normotensos que apresentaram a causa de morte não relacionada à endocrinopatia ou distúrbios cardiovasculares (politraumatismo). Estes gatos foram submetidos às avaliações macroscópicas, microscópicas e imuno-histoquímicas idênticas aos gatos com diagnósticos de neoplasmas endócrinos.

**Tabela 1.**

**Anticorpos e protocolos imuno-histoquímicos aplicados no coração de gatos com neoplasmas de glândulas endócrinas.**

<i>Anticorpo</i>	<i>Diluição</i>	<i>Recuperação antigênica</i>	<i>Cromógeno</i>
Peptídeo natriurético tipo B (cerebral) (ab125269, Abcam, Cambridge, Reino Unido)	1:50	Citrato pH 6.0, panela de pressão 125°C, 3'	AEC (Biocare Medical, Pacheco, CA, EUA)
Desmina (D33, Dako, California, EUA)	1:300	Tris EDTA pH 9.0, micro-ondas, dois ciclos de 5'	DAB (Dako)
Troponina C cardíaca humana (1AE, Novocastra, Newcastle, Reino Unido)	1:40	Tris EDTA pH 9.0, panela de pressão 125°C, 3'	DAB

AEC: 3-amino-9-etilcarbazol; DAB: 3,3'-diaminobenzidina.

### Resultados

No período estudado, houveram 20 necropsias de gatos com diagnóstico de neoplasmas endócrinos e que apresentavam alteração cardíaca concomitante caracterizada por hipertrofia. A idade dos gatos variou de 12 a 21 anos, com a mediana de 15 anos (média de 15,7 anos). Gatos sem raça definida foram os mais comumente acometidos (16/20), e não foi identificada predisposição sexual significativa. Na Tabela 2. estão descritos os tipos de neoplasmas, dados clínicos dos gatos, classificação da pressão arterial sistólica, exames complementares descritos nas requisições de necropsia e diagnóstico de doença renal crônica (DRC), quando presente.

**Tabela 2.****Descrição dos dados de gatos com hipertrofia cardíaca concomitante a neoplasma endócrino.**

<i>Caso</i>	<i>Diagnóstico</i>	<i>Idade (anos)</i>	<i>Raça</i>	<i>Sexo</i>	<i>Classificação da PAS<sup>§</sup></i>	<i>Exame complementar<sup>•</sup></i>	<i>DRC<sup>†</sup></i>
1	ACA	17	SRD	M	Gravemente hipertenso	↑aldosterona; ↓renina e ↓potássio	Não
2	AFT	15	SRD	F	Normotenso	↑T <sub>4</sub> total	Não
3	AFT	12	SRD	M	Normotenso	NI	Não
4	AFT	13	SRD	M	Normotenso	NI	Não
5	AFT	14	SRD	F	Normotenso	NI	Não
6	AFT	15	SRD	F	Normotenso	NI	Não
7	AFT	15	SRD	F	Gravemente hipertenso	↑T <sub>4</sub> total; ↑ureia e creatinina	Sim
8	AFT	15	SRD	F	Gravemente hipertenso	↑T <sub>4</sub> total	Não
9	AFT	15	SRD	M	Normotenso	↑T <sub>4</sub> total	Não
10	AFT	15	SRD	M	Gravemente hipertenso	↑ureia e creatinina	Sim
11	AFT	16	SRD	F	Normotenso	NI	Não
12	AFT	16	SRD	F	Normotenso	NI	Não
13	AFT	17	SRD	F	Não avaliada	NI	Não
14	AFT	20	SRD	F	Gravemente hipertenso	↑ureia e creatinina	Sim

15	AFT	15	Persa	F	Hipertenso	↑ureia e creatinina	Sim
16	AFT	21	Persa	F	Hipertenso	↑T <sub>4</sub> total; ↑ureia e creatinina	Sim
17	AFT	12	Siamês	M	Hipertenso	↑T <sub>4</sub> total	Não
18	AFT	16	Siamês	F	Gravemente hipertenso	NI	Não
19	CFT	20	SRD	M	Hipertenso	↑T <sub>4</sub> total	Não
20	LEM	14	SRD	M	Gravemente hipertenso	NI	Não

<sup>§</sup>PAS: pressão arterial sistólica. Classificação baseada no consenso descrito por Acierno *et al.* (2018); <sup>•</sup>Exames complementares relacionados a dosagem sérica de T<sub>4</sub> total, concentrações plasmáticas de creatinina, ureia e potássio e relação aldosterona:renina plasmática; <sup>†</sup>DRC: doença renal crônica; AFT: adenoma folicular da tireoide; CFT: carcinoma folicular da tireoide; ACA: adenoma da cortical da adrenal; LEM: lesão endócrina múltipla (adenoma folicular de tireoide e feocromocitoma); SRD: sem raça definida; M: macho; F: fêmea; NI: não informado.

Macroscopicamente, o coração dos gatos estava aumentado (Fig 1) em razão do espessamento do miocárdio, predominantemente do ventrículo esquerdo, com consequente redução da câmara ventricular esquerda (Fig 2). Áreas esbranquiçadas discretas a moderadas multifocais no miocárdio do ventrículo esquerdo e septo interventricular (Fig 2) foram identificadas em 50% dos casos (10/20). Dilatação do átrio esquerdo (9/20), dilatação do átrio direito (7/20) e espessamento do miocárdio do ventrículo direito (6/20) também foram visualizados em alguns casos. A proporção do peso do coração em relação ao peso corporal variou de 0,39% a 0,99%, com mediana de 0,63% (média 0,66%). Nos gatos do grupo controle e naqueles com cardiomiopatia hipertrofica primária, a mediana da proporção foi de 0,36% e 0,61%, respectivamente.

Nos gatos com neoplasmas nas tireoides e com hipertrofia cardíaca (19/20), as glândulas estavam aumentadas e de aspecto nodular. Em relação ao tamanho, o escore médio avaliado foi “5” (variação na escala entre “4” a “6”), representando um comprimento de 1,5 a 4,0 cm. Os nódulos eram bilaterais (10/19) ou unilaterais (9/19), de coloração esbranquiçada a marrom escuro e, frequentemente, com pequenos cistos adjacentes. Nos outros 12 gatos com neoplasmas de tireoide e sem lesão cardiovascular identificada, o escore médio do tamanho das tireoides foi “3”.

No gato com adenoma cortical da adrenal, foi identificada área nodular bem delimitada na cortical da glândula direita, de 1,8 cm de diâmetro, esbranquiçada a levemente amarelada e friável. O feocromocitoma foi caracterizado por nódulo na adrenal direita de 3,0 cm de diâmetro, que ao corte era esbranquiçado, firme e lobular, com áreas multifocais a coalescentes vermelhas e friáveis.

Cinco gatos apresentaram diagnóstico de DRC, baseado na alta concentração de creatinina e ureia plasmáticas e nas alterações patológicas renais.



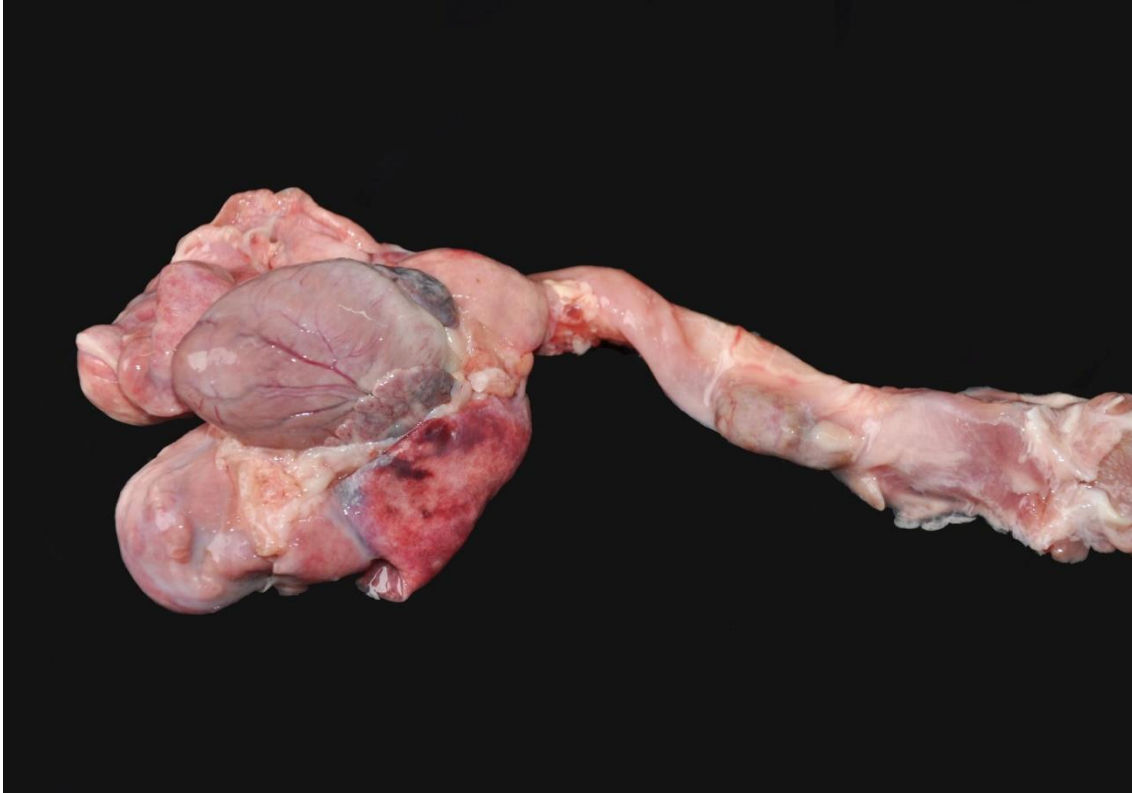


Fig 1. Aspecto macroscópico do coração de um gato com adenoma de tireoide. Observa-se coração aumentado. A tireoide esquerda encontra-se aumentada decorrente do nódulo esbranquiçado e paratireoide aumentada em um gato com doença renal concomitante.



Fig 2. Aspecto macroscópico do coração de um gato com adenoma de tireoide. Secções transversais do coração com acentuada hipertrofia do miocárdio, principalmente do ventrículo esquerdo, com conseqüente redução do lúmen ventricular. Visualizam-se ainda múltiplas áreas esbranquiçadas no miocárdio do ventrículo esquerdo e septo interventricular.

Histologicamente, as principais lesões identificadas foram graus variados de hipertrofia multifocal dos cardiomiócitos, desarranjo multifocal caracterizado por entrelaçamento das miofibras e fibrose multifocal a coalescente intersticial. A fibrose corou-se fortemente de azul na técnica de TM (Fig 3). Outros achados histológicos encontrados na maioria dos casos incluíram aumento do tamanho e forma do núcleo dos cardiomiócitos (cariomegalia), espessamento da parede de vasos sanguíneos multifocal no miocárdio e áreas multifocais de necrose de cardiomiócitos caracterizados por retração celular, hipereosinofilia e perda das estriações e núcleo ausente ou com

condensação da cromatina. Foi identificado infiltrado inflamatório multifocal no miocárdio e ocasionalmente no epicárdio, constituído por linfócitos e plasmócitos, com ocasionais neutrófilos e macrófagos em 50% dos casos (10/20). Na Tabela 3. estão detalhadas as lesões histológicas e suas graduações nos 20 gatos do presente estudo.

Não foram identificadas diferenças nas alterações macroscópicas e microscópicas no coração dos 20 gatos analisados em relação aos tipos de diagnósticos dos neoplasmas endócrinos, assim como não foram observadas diferenças nas lesões patológicas em relação aos casos de cardiomiopatia hipertrófica primária.

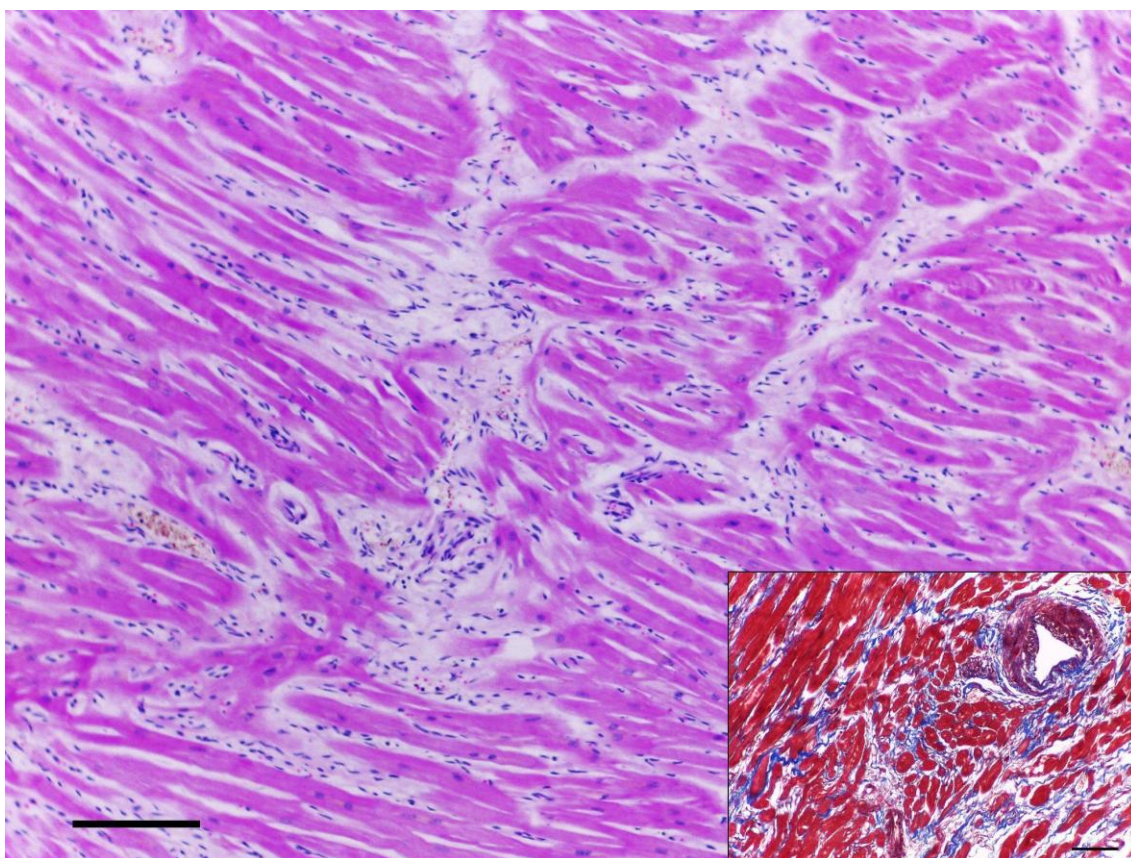


Fig 3. Aspectos microscópicos do coração de gatos com hipertrofia cardíaca concomitante ao adenoma folicular de tireoide. Observa-se no miocárdio do ventrículo esquerdo moderada hipertrofia multifocal dos cardiomiócitos, áreas multifocais de entrelaçamento das miofibras e fibrose multifocal intersticial discreta. (HE). Bar, 120

$\mu\text{m}$ . No detalhe observa-se discreta fibrose intersticial corada em azul. (TM). Bar, 120  $\mu\text{m}$ .

Tabela 3.

Lesões histológicas e graduações das lesões observadas no coração de gatos com neoplasmas endócrinos.

Caso	Neoplasma	Lesão histológica cardiovascular						
		<i>Hipertrofia de cardiomiócitos</i>	<i>Desarranjo das miofibras</i>	<i>Fibrose miocárdica</i>	<i>Vasos sanguíneos espessados</i>	<i>Necrose miocárdica</i>	<i>Cariomegalia</i>	<i>Infiltrado inflamatório*</i>
1	ACA	++	++	++	+	+	+	+
2	AFT	++	++	+	++	+	-	+
3	AFT	++	++	++	+	+	++	+
4	AFT	++	+	+	+	++	++	+
5	AFT	+	+	+	++	+	+	-
6	AFT	+	+	+	-	-	-	-
7	AFT	++	++	++	++	+	+	-
8	AFT	++	+	+	-	-	-	-
9	AFT	++	+	+	++	+	+	+
10	AFT	++	++	+++	++	-	-	-
11	AFT	++	+	+	++	-	+	-
12	AFT	+++	++	++	+	+	+	+
13	AFT	+	+	+	+	+	-	-

14	AFT	+	+	+	-	+	-	-
15	AFT	++	++	+	++	+	+	+
16	AFT	+	+	+	+	+	+	+
17	AFT	++	+	+	+	-	+	-
18	AFT	++	+	+	+	++	++	++
19	CFT	++	+	+	-	+	++	-
20	LEM	+++	++	+++	+	+	++	+
Total N (%)		20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)	16 (80%)	15 (75%)	14 (70%)	10 (50%)

\*: Infiltrado inflamatório composto predominantemente por linfócitos e plasmócitos, com ocasionais neutrófilos e macrófagos;

AFT: adenoma folicular da tireoide; CFT: carcinoma folicular da tireoide; ACA: adenoma da cortical da adrenal; LEM: lesão endócrina múltipla (adenoma folicular de tireoide e feocromocitoma); Intensidade das lesões: (-): não identificada, (+): leve, (++):

moderado e (+++): acentuado. N: número de casos; %: porcentagem.

Na avaliação IHQ para BNP, mais da metade dos gatos apresentaram marcação moderada nos cardiomiócitos (13/20). Nos casos restantes, a imunoposição foi graduada em acentuada (5/20) e discreta (2/20). Essa marcação ocorria difusamente no cardiomiócitos e foi identificada predominantemente nas regiões subendocárdicas (Fig 4A-B). Ainda, identificou-se imunorreação na túnica média de ocasionais vasos sanguíneos de distribuição multifocal no miocárdio (Fig 4C). Nos controles caracterizados por gatos normotensos sem causa de morte relacionada à endocrinopatia ou distúrbios cardiovasculares, não foram observadas marcações nos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo, porém, a túnica média dos vasos sanguíneos do miocárdio apresentaram imunoposição (Fig 4D). Os controles negativos não exibiram imunorreatividade para BNP (Fig 4D).

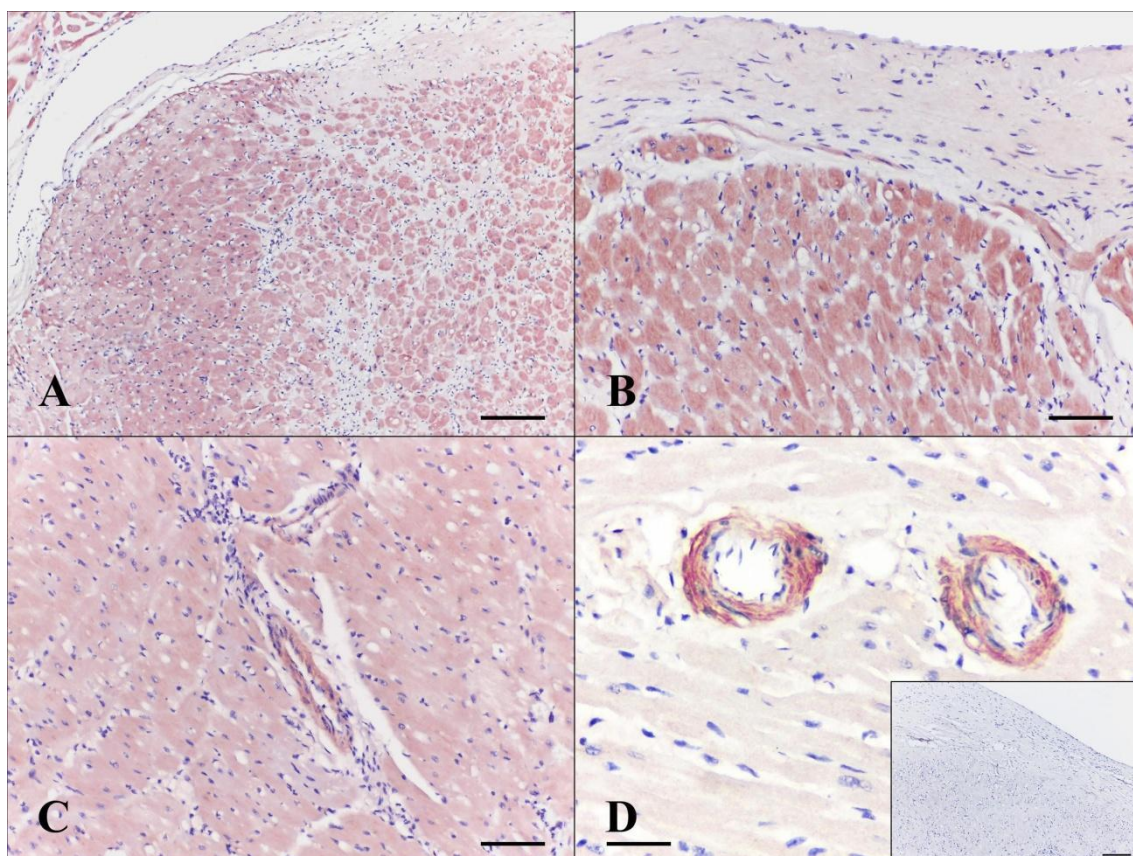


Fig. 4. Avaliação imuno-histoquímica para o peptídeo natriurético tipo B (cerebral)

(BNP) em secções de coração de gatos com hipertrofia cardíaca e adenoma folicular da tireoide. (A) Observa-se no miocárdio do ventrículo esquerdo cardiomiócitos da região subendotelial com intensa marcação entremeados por moderada fibrose intersticial (AEC). Bar, 240  $\mu\text{m}$ . (B) Cardiomiócitos da região subendotelial com acentuada marcação intracitoplasmática para BNP. (AEC). Bar, 120  $\mu\text{m}$ . (C) Túnica média de vaso sanguíneo do miocárdio com marcação para BNP. Visualizam-se inúmeros cardiomiócitos no miocárdio com marcação leve e difusa. (AEC). Bar, 120  $\mu\text{m}$ . (D) Cardiomiócitos do miocárdio do ventrículo esquerdo sem marcação no caso controle. Observa-se expressão na túnica média dos vasos sanguíneos miocárdicos. (AEC). Bar, 60  $\mu\text{m}$ . Detalhe: controle negativo sem imunorreatividade para BNP no miocárdio. (AEC). Bar, 120  $\mu\text{m}$ .

Em relação ao anticorpo cTnC, foram identificadas áreas multifocais com diminuição e/ou ausência de marcação em cardiomiócitos. Em 50% dos casos (10/20) essas lesões foram graduadas como moderadas (Fig 5A-B), e este padrão de imunorreação foi visualizado predominantemente em áreas de desarranjo das miofibras (Fig 5C) e necrose miocárdica. A diminuição e/ou ausência da imunoexpressão para a cTnC também foi graduada como discreta (7/20) e acentuada (3/20). Ainda, foram visualizadas discretas áreas com diminuição da imunorreação em cardiomiócitos que não apresentavam lesões histológicas evidentes.

Nos controles positivos, os cardiomiócitos apresentaram intensa imunoexpressão difusa (Fig 5D); entretanto, no controle negativo, não foi identificada imunorreação (Fig 5D).



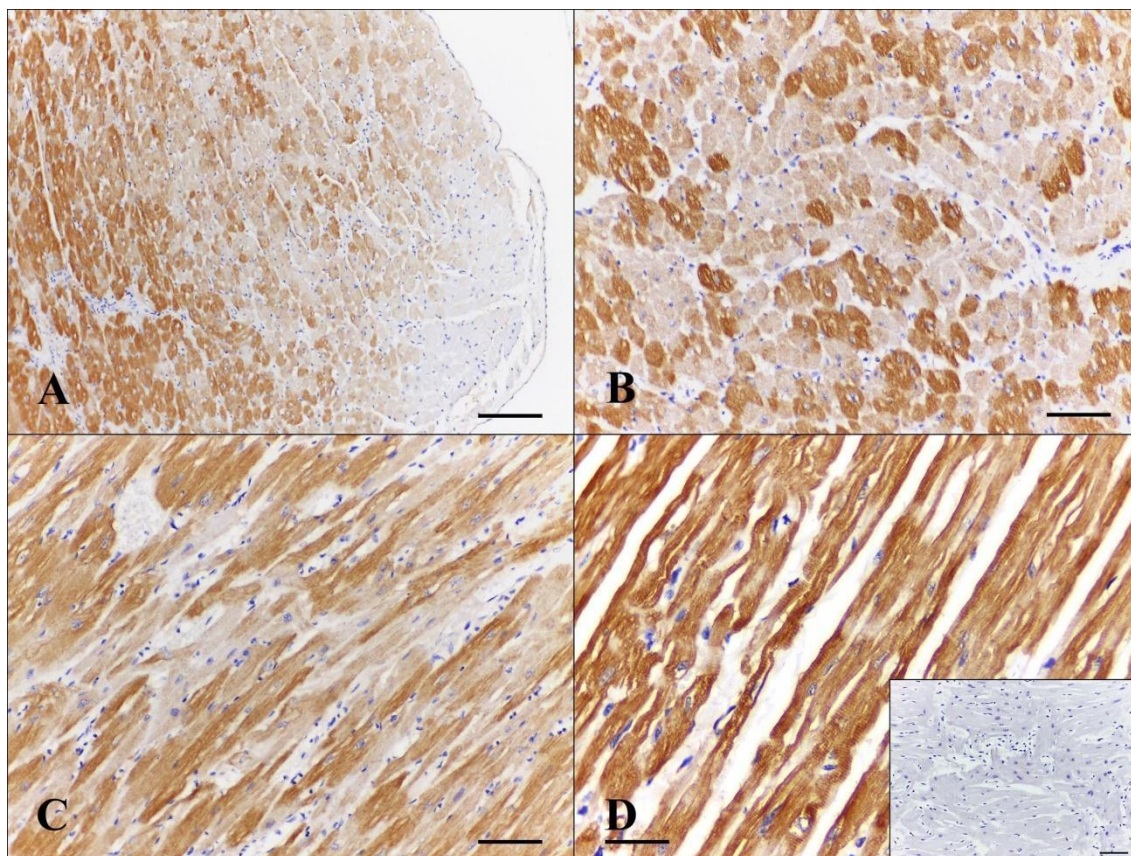


Fig. 5. Avaliação imuno-histoquímica para a troponina C cardíaca humana (cTnC) no coração de gatos com hipertrofia cardíaca e neoplasmas endócrinos. (A) Observam-se áreas multifocais a coalescentes de moderada diminuição e ausência da marcação para cTnC em cardiomiócitos do miocárdio do ventrículo esquerdo de um gato com lesão endócrina múltipla caracterizada por adenoma folicular de tireoide e feocromocitoma. (DAB). Bar, 240  $\mu$ m. (B) Cardiomiócitos com diminuição e ausência de marcação entremeados por cardiomiócitos com intensa imunoexpressão (DAB). Bar, 120  $\mu$ m. (C) Observam-se áreas multifocais a coalescentes de desarranjo das miofibras com moderada diminuição e ausência da marcação para cTnC no miocárdio do ventrículo esquerdo de um gato com adenoma folicular de tireoide. (DAB). Bar, 120  $\mu$ m. (D) Intensa marcação difusa em cardiomiócitos em um gato controle que apresentou a causa da morte não relacionado aos distúrbios endócrinos e cardiovasculares. (DAB). Bar, 120

$\mu\text{m}$ . Detalhe: no controle negativo não foi observada imunorreação no miocárdio. (DAB). Bar, 60  $\mu\text{m}$ .

Na análise IHQ para a desmina, observou-se em todos os casos áreas multifocais a coalescentes com diminuição e/ou ausência da imunoexpressão nos discos intercalares e nas estriações transversais dos cardiomiócitos, principalmente nas áreas de desarranjo das miofibras (Fig 6A-C). A perda da expressão foi graduada mais comumente como moderada (11/20), seguida por acentuada (6/20) e menos frequentemente, discreta (3/20). Ocasionais cardiomiócitos com um padrão de marcação granular intenso e de distribuição multifocal foram visualizados em alguns casos (4/20). Nos casos controle, identificou-se intensa marcação difusa nos cardiomiócitos, com estriações transversais e discos intercalares bem evidentes e preservados (Fig 6D). No controle negativo não foi identificada nenhuma imunorreação (Fig 6D).

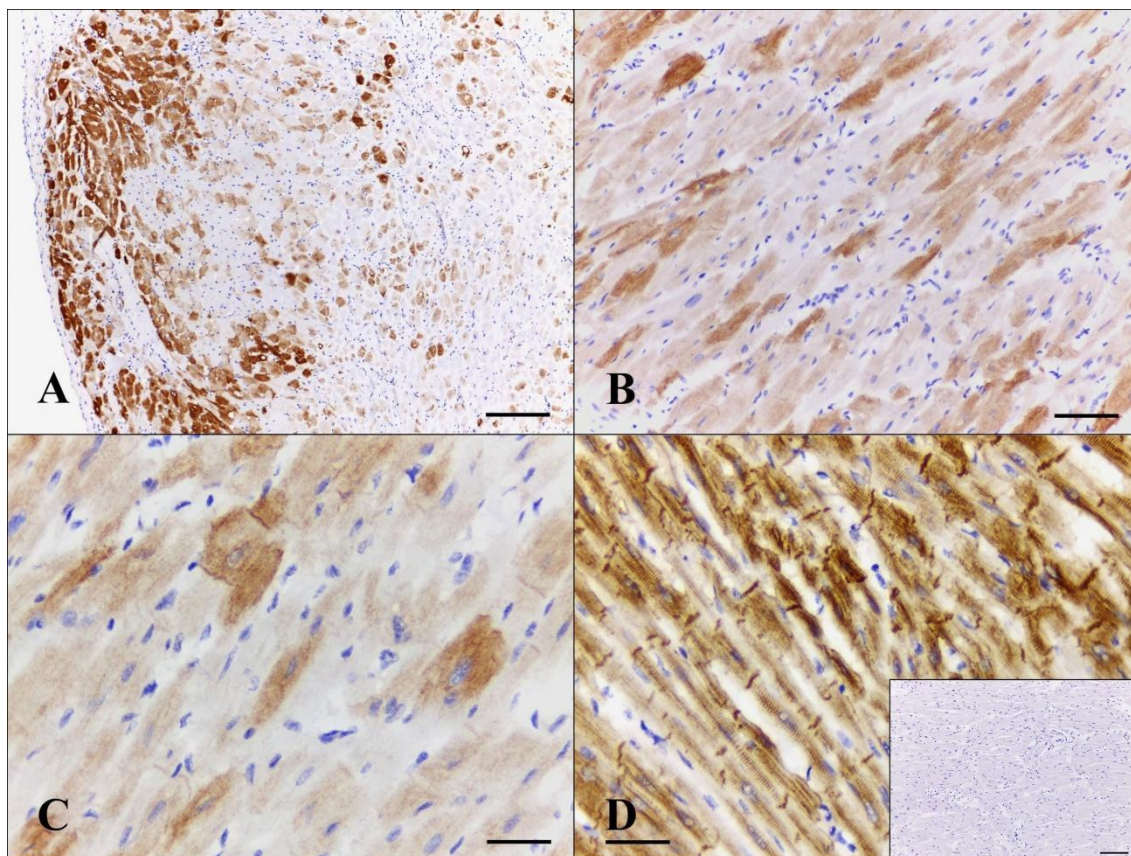


Fig. 6. Avaliação imuno-histoquímica para a desmina em secções de coração de gatos com hipertrofia cardíaca e neoplasmas endócrinos. (A) Observam-se áreas multifocais a coalescentes de acentuada diminuição e ausência da marcação para desmina em cardiomiócitos do miocárdio do ventrículo esquerdo de um gato com neoplasma endócrino múltiplo (adenoma folicular de tireoide e feocromocitoma). (DAB). Bar, 240  $\mu$ m. (B) Moderada diminuição e ausência da imunoexpressão dos cardiomiócitos, principalmente nas áreas de desarranjo das miofibras. Visualizam-se ainda ocasionais cardiomiócitos, com um padrão de marcação intensa granular, multifocalmente no miocárdio de um gato com adenoma folicular de tireoide (DAB). Bar, 120  $\mu$ m. (C) Visualiza-se cardiomiócitos com expressão para desmina diminuída em discos intercalares e estriações (DAB). Bar, 60  $\mu$ m. (D) Intensa marcação em cardiomiócitos com intensa evidência de discos intercalares e estriações transversais bem preservadas no caso controle. (DAB). Bar, 60  $\mu$ m. Detalhe: controle negativo com

ausência de imunexpressão para a desmina em cardiomiócitos do miocárdio. (DAB).  
Bar, 120 µm.

Não foram identificadas diferenças entre as marcações imuno-histoquímicas para BNP, cTnC e desmina em relação aos diagnósticos de neoplasmas endócrinos. Nos controles positivos, caracterizados por diagnósticos de cardiomiopatia hipertrófica primária, observou-se resultados e padrões imuno-histoquímicos semelhantes aos gatos com neoplasmas endócrinos para os três anticorpos analisados.

### **Discussão**

No presente estudo, os neoplasmas endócrinos foram identificados em gatos idosos, com a idade mediana de 15 anos, e comumente em animais sem raça definida, semelhante aos dados descritos na literatura (Liu *et al.*, 1984; Djajadiningrat-Laanen *et al.*, 2011; Scott-Moncrieff, 2012; Gunn-Moore e Simpson, 2013; Daniel *et al.*, 2016). O achado relacionado a raça é atribuído, possivelmente, ao fato de os animais sem raça definida representarem a maioria da população felina da região analisada (Spalla *et al.*, 2016; Argenta *et al.*, 2020).

O aumento de volume do coração em razão do espessamento do miocárdio, principalmente do ventrículo esquerdo, com consequente redução do lúmen ventricular foram os achados macroscópicos predominantes em todos os gatos do presente estudo (Liu *et al.*, 1984; Moise e Dietze, 1986; Bond *et al.*, 1988; Robinson e Robinson, 2016; Watson *et al.*, 2018). Dilatação atrial também foi relatada em uma pesquisa semelhante (Liu *et al.*, 1984). As áreas esbranquiçadas multifocais no miocárdio visualizadas em 10 gatos decorrentes da fibrose no miocárdio foram identificadas em casos de cardiomiopatias (Fox, 2004; Argenta *et al.*, 2020). O valor mediano da proporção do

peso do coração em relação ao peso corporal é significativamente maior em gatos com neoplasmas endócrinos, quando comparados com gatos normais. Entretanto, não se observou diferença nesse valor quando comparado com diagnósticos de outras doenças cardíacas, como a cardiomiopatia hipertrófica primária (Liu *et al.*, 1981).

No hipertireoidismo, vários mecanismos podem ser responsáveis pelo desenvolvimento das alterações cardiovasculares. O estado hipermetabólico nessa condição resulta em alto débito consequente dos efeitos combinados da diminuição da resistência vascular periférica, aumento da frequência e contratilidade cardíacas, e aumento da demanda de oxigênio do miocárdio (Liu *et al.*, 1984; Kobori *et al.*, 1999; Klein e Ojamaa, 2001; Kahaly e Dillmann, 2005; Robinson e Robinson, 2016). Nos neoplasmas de adrenal do presente estudo, a hipertrofia cardíaca pode estar relacionada com o aumento da pós-carga associada à hipertensão consequente dos altos níveis séricos de aldosterona (Tanabe *et al.*, 1997) ou relacionado aos efeitos tóxicos diretos e indiretos das catecolaminas produzidas em excesso pelo feocromocitoma (Jepson, 2011; Edmondson *et al.*, 2015; Robinson e Robinson, 2016). O aumento de catecolaminas induz um aumento do débito cardíaco e da resistência vascular periférica o que gera hipertensão e a sobrecarga de pressão induz cardiomiopatia hipertrófica secundária (Tarazi *et al.*, 1970; Jacob *et al.*, 1994).

Histologicamente, as principais lesões identificadas foram hipertrofia dos cardiomiócitos, desorganização das miofibras e fibrose. Achados histológicos semelhantes foram descritos em gatos com tumores de tireoide (Liu *et al.*, 1984). O aspecto histológico identificado no presente estudo é frequentemente relatado em gatos com cardiomiopatia hipertrófica primária (Fox, 2003; Biasato *et al.*, 2015; Robinson e Robinson, 2016). A hipertrofia foi representada por cardiomiócitos aumentados e com alteração no tamanho nuclear (Fox, 2003), e o desarranjo caracterizado por

entrelaçamento das miofibras (Liu *et al.*, 1981; Fox, 2003). As áreas multifocais de desorganização das miofibras podem predispor à falta de fornecimento sanguíneo adequado ao miocárdio e, subsequentemente, isquemia e fibrose. Ainda, as miofibras desorganizadas promovem contração insuficiente e aumentam a demanda energética (Iida *et al.*, 1998; Varnava *et al.*, 2001; Cesta *et al.*, 2005). O espessamento da parede de vasos sanguíneos, com redução do lúmen vascular, também pode contribuir para o desenvolvimento de isquemia miocárdica (Maron e Spirito, 1998; Cesta *et al.*, 2005). O desarranjo das miofibras foi um achado comum nesse estudo, o que contrasta com pesquisas anteriores que descrevem que esta alteração é infrequente em casos de hipertrofia cardíaca relacionados com neoplasmas funcionais de tireoide (Liu *et al.*, 1984).

Nos feocromocitomas funcionais, as principais lesões histológicas identificadas em cães e humanos são necrose de cardiomiócitos, fibrose intersticial, infiltrado inflamatório e espessamento da parede dos vasos sanguíneos (Kassim *et al.*, 2008; Edmondson *et al.* 2015; Miura *et al.*, 2017), dados que corroboram com os achados no gato do presente estudo. Os efeitos diretos e indiretos do excesso das catecolaminas causam isquemia no miocárdio e, em lesões crônicas, são identificadas degeneração miofibrilar e fibrose (Kassim *et al.*, 2008). Assim como o efeito indireto do feocromocitoma, o adenoma cortical funcional da adrenal pode cursar com lesões histológicas cardiovasculares decorrentes da sobrecarga cardíaca e aumento da resistência vascular periférica, com consequente hipertensão arterial sistêmica, devido à síntese e liberação exagerada de aldosterona (Jepson, 2011; Robinson e Robinson, 2016). No gato com lesão endócrina múltipla do presente estudo, não se pode definir se a hipertrofia cardíaca ocorreu secundariamente aos efeitos dos hormônios da tireoide, aos efeitos tóxicos diretos e indiretos das catecolaminas ou em razão da hipertensão.

Na avaliação imuno-histoquímica, observou marcação nos cardiomiócitos para BNP, principalmente nas regiões subendoteliais. Esses achados foram semelhantes aos descritos em gatos com cardiomiopatia hipertrófica (Biondo *et al.*, 2003). Os peptídeos natriuréticos são hormônios sintetizados pelos cardiomiócitos e responsáveis pela regulação da homeostase e da pressão arterial (Martinez-Rumayor *et al.*, 2009). Os principais efeitos biológicos produzidos incluem a estimulação da natriurese e diurese, vasodilatação e inibição do sistema renina-angiotensina-aldosterona (Hall, 2005; Kim e Januzzi, 2011; Liquori *et al.*, 2014; Blake, 2018). A síntese e liberação do BNP pelos cardiomiócitos para a circulação aumentam em resposta ao estresse miocárdico causado por sobrecarga de volume, sobrecarga de pressão ou isquemia (Nakagawa *et al.*, 1995; Luchner *et al.*, 1998; Biondo *et al.*, 2003; Goetze *et al.*, 2004; Hall, 2005; Connolly, 2010; Kim e Januzzi, 2011). Em gatos saudáveis, o BNP é localizado principalmente nos cardiomiócitos atriais (Biondo *et al.*, 2003), portanto, os ventrículos se tornam a principal fonte de produção de BNP somente nas doenças cardíacas (Rossi *et al.*, 2000; Blake, 2018). Pesquisadores sugeriram que o BNP é expresso nos cardiomiócitos ventriculares em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica (Hasegawa *et al.*, 1993). O padrão de distribuição intenso em cardiomiócitos adjacentes à superfície endocárdica presuntivamente ocorreu devido à maior facilidade de liberação endocárdica do peptídeo, após a produção miocárdica (Biondo *et al.*, 2003). O BNP pode ser utilizado como marcador para o diagnóstico histológico de cardiomiopatia; entretanto, mais estudos são necessários para estabelecer a acurácia deste marcador através da IHQ. No presente estudo, não foi observada diferença entre as marcações nos casos de cardiomiopatia hipertrófica primária e sua forma secundária (Biondo *et al.*, 2003).

O hipertireoidismo é descrito como um fator associado ao aumento sérico das concentrações de BNP (Connolly *et al.*, 2005; van Kimmenade *et al.*, 2009; Menaut *et*

*al.*, 2012), pois os hormônios tireoidianos podem estimular a liberação desse peptídeo pelos cardiomiócitos (Kohno *et al.*, 1993). Porém, as utilizações dos biomarcadores séricos não diferenciam efetivamente gatos com hipertireoidismo de gatos com cardiomiopatia primária (Sangster *et al.*, 2014). No presente estudo, não foram observadas diferenças nas marcações IHQ entre os casos de hipertrofia cardíaca concomitante ao neoplasma endócrino e gatos com cardiomiopatia hipertrófica primária. Os hormônios tireoidianos causam diminuição da resistência vascular periférica e preenchimento arterial insuficiente que, por sua vez, estimula o sistema renina-angiotensina-aldosterona, o qual gera aumento do volume vascular, estiramento do miocárdio e liberação de peptídeos natriuréticos. A concentração desses peptídeos é influenciada direta e indiretamente pela função da tireoide (Menaut *et al.*, 2012).

Na avaliação para cTnC foram identificadas áreas multifocais de diminuição e/ou ausência de marcação em cardiomiócitos em todos os gatos do presente estudo. As troponinas cardíacas são proteínas intracelulares que compõem o aparelho contrátil do miocárdio e são consideradas marcadores sensíveis e específicos de lesão muscular (Godoy *et al.*, 1998; Martínez Díaz *et al.* 2005; O'Brien, 2008; White, 2011; Thygesen *et al.*, 2012). Existem três formas diferentes de troponinas: I (cTnI), T (cTnT) e a cTnC. As duas primeiras formas são específicas para lesão miocárdica e diversos pesquisadores descrevem o aumento sérico, principalmente da cTnI, em gatos com cardiomiopatia hipertrófica primária, hipertireoidismo e doença renal crônica (Herndon *et al.*, 2002; Connolly *et al.*, 2003; Connolly *et al.*, 2005; Sangster *et al.*, 2014; Hori *et al.*, 2018; Langhorn *et al.*, 2019). Em contraste, a troponina C cardíaca e a esquelética são estruturalmente iguais, o que torna esse biomarcador sérico não útil na rotina clínica (Blake, 2018). Entretanto, no presente estudo, avaliou-se a expressão da cTnC no tecido cardíaco através da IHQ, confirmando a lesão em cardiomiócitos.



Os cardiomiócitos normais são positivos para as troponinas cardíacas e, em casos de danos em cardiomiócitos, observa-se uma diminuição ou ausência da imunoeexpressão (Ortmann *et al.*, 2000; Fishbein *et al.*, 2003; Jenkins *et al.* 2010; Bandinelli *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2016), igualmente como observado neste estudo. A diminuição ou ausência da imunorreação foi visualizada em áreas de desarranjo das miofibras e em áreas de necrose identificadas à histologia. Sugere-se que, nesses casos, a oferta de oxigênio para os cardiomiócitos é inadequada para atender às demandas do tecido (Maron *et al.*, 2009). O aumento da espessura da parede do miocárdio do ventrículo esquerdo, associado às alterações na morfologia vascular e fatores como o aumento da frequência cardíaca e da pós-carga, podem ocasionar isquemia no miocárdio (Ommen, 2011). Em humanos, a determinação IHQ dos níveis de cTnC no tecido miocárdico pode ser usada como índice de lesão miocárdica, principalmente em casos de morte súbita (Martínez-Díaz *et al.*, 2005).

O aumento sérico das troponinas em casos de hipertireoidismo pode estar relacionado às alterações na resistência vascular e volume induzidas pelos hormônios tireoidianos, além do efeito direto no tecido cardíaco, que gera dano aos cardiomiócitos (Connolly *et al.*, 2005; Borgeat *et al.*, 2015). No presente estudo, não se identificou diferenças nas análises IHQ para cTnC em gatos com hipertrofia cardíaca com neoplasma endócrino e casos de cardiomiopatia hipertrófica primária. Um pesquisador descreveu que esses biomarcadores séricos não possibilitam a distinção entre os tipos de doenças cardiovasculares (Oyama, 2013), sobretudo, a hipertrofia associada ao hipertireoidismo da cardiomiopatia primária em gatos (Sangster *et al.*, 2014).

Em relação aos casos de neoplasmas na adrenal do presente estudo, a marcação IHQ nos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo para BNP e a diminuição e/ou ausência da reação para a cTnC podem estar relacionadas à hipertensão arterial sistêmica e

sobrecarga cardíaca (Kohno *et al.*, 1992).

No presente estudo, todos os casos apresentaram diminuição e/ou ausência da imunexpressão nos discos intercalares e nas estriações dos cardiomiócitos para desmina, principalmente nas áreas de desarranjo das miofibras. Esses achados são semelhantes aos descritos em gatos e humanos diagnosticados com cardiomiopatia hipertrófica (D'Amati *et al.*, 1992; Francalanci *et al.*, 1995; Hayman *et al.*, 2000). Na medicina humana, foram descritos três padrões de marcação para desmina: miofibras com perda total ou diminuição da marcação nas linhas Z e discos intercalares; cardiomiócitos individuais com marcação intracitoplasmática granular intensa; e cardiomiócitos com expressão paralela (D'Amati *et al.*, 1992). Esse último padrão não foi identificado em gatos (Hayman *et al.*, 2000). A desmina é uma proteína do citoesqueleto, intracitoplasmática e é o principal filamento intermediário dos cardiomiócitos adultos. A desmina desempenha um papel estrutural, mecânico e regulador essencial na integridade cardíaca (Paulin e Li, 2004). Portanto, áreas onde há diminuição ou ausência de expressão IHQ para desmina podem representar danos no citoesqueleto, com perda do filamento intermediário (Radu *et al.*, 2012).

A desmina pode ser considerada um marcador IHQ útil para o diagnóstico de cardiomiopatia hipertrófica em gatos (Hayman *et al.*, 2000) e humanos (D'Amati *et al.*, 1992; Francalanci *et al.*, 1995). Entretanto, os estudos prévios não analisaram amostras cardíacas provenientes de pacientes com causas de hipertrofia cardíaca secundária, como hipertireoidismo e hipertensão.

Uma limitação importante do presente estudo se deve ao fato de tratar-se de uma análise retrospectiva e, deste modo, inviabilizar a correlação de todos os casos entre a dosagem dos hormônios tireoidianos e da concentração plasmática e/ou urinária das catecolaminas aos neoplasmas, quando tais informações não constavam nos laudos de

necropsia. Entretanto, pesquisadores descrevem que os adenomas tireoidianos frequentemente estão relacionados ao hipertireoidismo em gatos idosos (Lucke, 1964; Leav et al., 1976; Peterson, 2012), enquanto a neoplasia não funcional é extremamente rara (Scott-Moncrieff, 2002). A maioria dos gatos com hipertireoidismo apresentam as glândulas aumentadas (Peterson et al., 1983; Thoday e Mooney, 1992), e tireoides com comprimento  $\geq 1,5\text{cm}$  frequentemente apresentaram aumento sérico de T4 total (Norsworthy et al., 2002). No presente estudo, todos os gatos apresentaram tireoides com escore “4” ou superior (tamanho  $\geq 1,5\text{cm}$ ), o que reforça a hipótese de que estes tumores eram funcionais; enquanto nos gatos com neoplasmas de tireoide e sem envolvimento cardiovascular, o escore foi “3”. Peterson *et al.* (2016) relataram ainda, que gatos com tumores grandes apresentavam hipertireoidismo de uma forma mais grave e tinham concentrações séricas de T4 mais altas.

A hipertensão foi identificada em mais da metade dos gatos do estudo, e esta condição pode ser secundária ao hipertireoidismo, DRC, hiperaldosteronismo primário e feocromocitoma (Acierno *et al.*, 2018). Ainda que no hipertireoidismo ocorra uma diminuição na resistência vascular periférica, os efeitos dos hormônios tireoidianos cursam com aumento do débito cardíaco, no qual leva à hipertensão (Kuchel *et al.*, 1982). A hipertensão contribui para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, que é inicialmente considerada adaptativa, e ocorre como resultado do aumento da demanda cardíaca e maior resistência vascular (Barreto-Chaves et al., 2020). Deve-se considerar que cinco gatos hipertensos do presente estudo apresentavam adenomas foliculares de tireoide e DRC. Portanto, a hipertrofia cardíaca nestes casos também pode ser relacionada com o aumento da pressão causada pela lesão renal, visto que a DRC é a maior causa de hipertensão em gatos (Jepson, 2011). Na DRC, ocorre uma expansão volumétrica secundária, causada pela maior retenção de água e sódio devido à

diminuição da taxa de filtração glomerular, com consequente ativação excessiva do sistema renina-angiotensina-aldosterona (Campese *et al.*, 2006). Esses efeitos geram um aumento do débito cardíaco e da resistência vascular periférica (Tarazi *et al.*, 1970). A hipertensão primária é extremamente rara em animais domésticos (Robinson e Robinson, 2016). Ainda, em relação à hipertensão arterial sistêmica, os gatos do presente estudo não apresentaram outras doenças relacionadas à hipertensão secundária, como diabetes mellitus e hiperadrenocorticismo, e nenhum caso apresentou descrição referente à utilização de agentes terapêuticos e tóxicos associados à hipertensão secundária (Acierno *et al.*, 2018).

Outra hipótese referente à hipertrofia cardíaca identificada nos gatos do presente estudo é a presença de uma cardiomiopatia primária não relacionada aos tumores (Syme, 2007; Watson *et al.*, 2018). Entretanto, esta condição ocorre por um fator genético na ausência de estímulos metabólicos e/ou hemodinâmicos, como hipertireoidismo e hipertensão (Fox, 2003; Trehou-Sechi *et al.*, 2012), e frequentemente afeta gatos com uma idade média inferior (idade média 6,3 a 7,6 anos), quando comparado aos pacientes com neoplasmas endócrinos (idade média de 13 anos) (Liu *et al.*, 1984; Ferasin *et al.*, 2003; Argenta *et al.*, 2020).

Este estudo forneceu informações sobre os aspectos patológicos e imuno-histoquímicos da hipertrofia cardíaca de gatos com diagnósticos concomitantes de neoplasmas endócrinos e sugeriu que as alterações cardiovasculares podem estar relacionadas com os efeitos diretos e indiretos dos hormônios produzidos pelos tumores endócrinos funcionais, mais comumente os adenomas de tireoide. Aumento de tamanho do coração e hipertrofia do miocárdio foram os achados macroscópicos principais. À histologia, foram identificados hipertrofia de cardiomiócitos, desarranjo das miofibras e fibrose intersticial. O uso dos marcadores imuno-histoquímicos BNP, cTnC e desmina

serviu como uma ferramenta útil para auxiliar na detecção de lesões cardíacas, entretanto mais estudos são necessários para determinar um padrão de marcação para a diferenciação das doenças cardiovasculares em gatos, principalmente entre a cardiomiopatia hipertrófica e a hipertrofia cardíaca secundária.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e o Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) [PQ 2018 (308226 / 2018-6)] pelo financiamento deste estudo. Agradecemos a todos os membros do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo suporte técnico.

### **Declaração de interesses conflitantes**

Os autores declararam não haver potenciais conflitos de interesse com relação à pesquisa, autoria ou publicação deste artigo.

### **Financiamento**

Financiamento: Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) [PQ 2018 (308226 / 2018-6)].

### **Referências**

Acierno MJ, Brown S, Coleman AE, Jepson RE, Papich M *et al.* (2018) ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **32**, 1803–1822.

- Adameova A, Abdellatif Y, Dhalla NS (2009) Role of the excessive amounts of circulating catecholamines and glucocorticoids in stress-induced heart disease. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **87**, 493–514.
- Argenta FF, Mello LS, Cony FG, Pavarini SP, Driemeier D *et al.* (2020). Epidemiological and pathological aspects of cardiomyopathies in cats in southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **40**, 389–398.
- Bandinelli MB, Bassuino DM, Fredo G, Mari C, Driemeier D *et al.* (2014) Identificação e distribuição de lesões cardíacas em bovinos intoxicados por *Amorimia exotropica*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **34**, 837–844.
- Barreto-Chaves ML, Senger N, Fevereiro M, Parletta AC, Takano A (2020) Impact of hyperthyroidism on cardiac hypertrophy. *Endocrine Connections*, **9**, 59–69.
- Biasato I, Francescone L, La Rosa G, Tursi M (2015) Anatomopathological staging of feline hypertrophic cardiomyopathy through quantitative evaluation based on morphometric and histopathological data. *Research in Veterinary Science*, **102**, 136–141.
- Biondo AW, Ehrhart EJ, Sisson DD, Bulmer BJ, De Moraes HS *et al.* (2003) Immunohistochemistry of atrial and brain natriuretic peptides in control cats and cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Veterinary Pathology*, **40**, 501–506.
- Blake R (2018) The use of cardiac biomarkers in dogs and cats. *Companion Animal*, **23**, 569–577.
- Bond BR, Fox PR, Peterson ME *et al.* (1988) Echocardiographic findings in 103 cats with hyperthyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **192**, 1546–1549.
- Borgeat K, Connolly DJ, Luis Fuentes V (2015) Cardiac biomarkers in cats. *Journal of Veterinary Cardiology*, **17(Suppl 1)**, S74–86.

Campese VM, Mitra N, Sandee D (2006) Hypertension in renal parenchymal disease: why is it so resistant to treatment? *Kidney International*, **69**, 967–973.

Cesta MF, Baty CJ, Keene BW, Smoak IW, Malarkey DE (2005) Pathology of end-stage remodeling in a family of cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Veterinary Pathology*, **42**, 458–467.

Connolly DJ (2010) Natriuretic peptides: the feline experience. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **40**, 559–570.

Connolly DJ, Cannata J, Boswood A, Archer J, Groves EA *et al.* (2003) Cardiac troponin I in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **5**, 209–216.

Connolly DJ, Guitian J, Boswood A, Neiger R (2005) Serum troponin I levels in hyperthyroid cats before and after treatment with radioactive iodine. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **7**, 289–300.

Costa SZR, Peixoto PV, Brust LAC, d'Avila MS, Santos AM *et al.* (2016). Troponina C na detecção imuno-histoquímica de alterações regressivas precoces no miocárdio de ovinos naturalmente intoxicados por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **36**, 83–89.

- D'Amati G, Kahn HJ, Butany J, Silver MD (1992) Altered distribution of desmin filaments in hypertrophic cardiomyopathy: an immunohistochemical study. *Modern Pathology*, **5**, 165–168.
- Daniel G, Mahony OM, Markovich JE, Appleman E, Monaghan KN *et al.* (2016) Clinical findings, diagnostics and outcome in 33 cats with adrenal neoplasia (2002-2013). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **18**, 77–84.
- Dillmann W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. *Heart Failure Reviews*, **15**, 125–132.
- Djajadiningrat-Laanen S, Galac S, Boevé MH, Boroffka SA, Naan EC *et al.* (2013) Evaluation of the oral fludrocortisone suppression test for diagnosing primary hyperaldosteronism in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **27**, 1493–1499.
- Edmondson EF, Bright JM, Halsey CH, Ehrhart EJ (2015) Pathologic and cardiovascular characterization of pheochromocytoma-associated cardiomyopathy in dogs. *Veterinary Pathology*, **52**, 338–343.
- Ferasin L, Sturgess CP, Cannon MJ, Caney SM, Gruffydd-Jones TJ *et al.* (2003) Feline idiopathic cardiomyopathy: a retrospective study of 106 cases (1994-2001). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **5**, 151–159.
- Fishbein MC, Wang T, Matijasevic M, Hong L, Apple FS (2003) Myocardial tissue troponins T and I. An immunohistochemical study in experimental models of myocardial ischemia. *Cardiovascular Pathology*, **12**, 65–71.
- Fox PR (2003) Hypertrophic cardiomyopathy. Clinical and pathologic correlates. *Journal of Veterinary Cardiology*, **5**, 39–45.
- Fox PR (2004) Endomyocardial fibrosis and restrictive cardiomyopathy: pathologic and clinical features. *Journal of Veterinary Cardiology*, **6(1)**, 25-31.
- Francalanci P, Gallo P, Bernucci P, Silver MD, d'Amati G (1995) The pattern of desmin



- filaments in myocardial disarray. *Human Pathology*, **26**, 262–266.
- Gerber H, Peter H, Ferguson DC, Peterson ME *et al.* (1994) Etiopathology of feline toxic nodular goiter. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **24**, 541–565.
- Godoy MF, Braile DM, José PN (1998) Troponina como marcador de injúria celular miocárdica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, **71**, 629–633.
- Goetze JP, Gore A, Moller CH, Steinbruchel DA, Rehfeld JF *et al.* (2004) Acute myocardial hypoxia increases BNP gene expression. *FASEB Journal*, **18**, 1928–1930.
- Gunn- Moore D and Simpson K (2013) Pheochromocytoma in cats. In: *Clinical Endocrinology of Companion Animals*, 1th Edit., J Rand, Ed., John Wiley & Sons, New York, pp. 137–142.
- Hall C (2005) NT-ProBNP: the mechanism behind the marker. *Journal of Cardiac Failure*, **11(5 Suppl)**, S81–83.
- Hasegawa K, Fujiwara H, Doyama K, Miyamae M, Fujiwara T *et al.* (1993) Ventricular expression of brain natriuretic peptide in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, **88**, 372–380.
- Hayman R, Une Y, Nomura Y (2000) Desmin as a possible immunohistochemical marker for feline hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Medical Science*, **62**, 343–346.
- Herndon WE, Kittleson MD, Sanderson K, Drobatz KJ, Clifford CA *et al.* (2002) Cardiac troponin I in feline hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **16**, 558–564.
- Hori Y, Iguchi M, Heishima Y, Yamashita Y, Nakamura K *et al.* (2018) Diagnostic utility of cardiac troponin I in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **32**, 922–929.

Iida K, Yutani C, Imakita M, Ishibashi-Ueda H (1998) Comparison of percentage area of myocardial fibrosis and disarray in patients with classical form and dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Cardiology*, **32**, 173–180.

Janus I, Kandefér-Góla M, Ciaputa R, Noszczyk-Nowak A, Paśławska U *et al.* (2016) The immunohistochemical evaluation of selected markers in the left atrium of dogs with end-stage dilated cardiomyopathy and myxomatous mitral valve disease - a preliminary study. *Irish Veterinary Journal*, **69**, 1–9.

Jacob JLB, Silveira LC, Freitas CG, Cêntola CAP, Nicolau JC *et al.* (1994) Pheochromocytoma with echocardiographic features of obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Angiology*, **45**, 985–989.

Jenkins CP, Cardona DM, Bowers JN, Oliai BR, Allan RW *et al.* (2010) The utility of C4d, C9, and troponin T immunohistochemistry in acute myocardial infarction. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **134**, 256–263.

Jepson RE. Feline systemic hypertension: classification and pathogenesis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **13**, 25–34.

Jiang JP, Downing SE (1990) Catecholamine cardiomyopathy: review and analysis of pathogenetic mechanisms. *Yale Journal of Biology and Medicine*, **63**, 581–591.

Kahaly GJ, Dillmann WH (2005) Thyroid hormone action in the heart. *Endocrine Reviews*, **26**, 704–728.

Kassim TA, Clarke DD, Mai VQ, Clyde PW, Mohamed Shakir KM (2008) Catecholamine-induced cardiomyopathy. *Endocrine Practice*, **14**, 1137–1149.

Kim HN, Januzzi JL Jr. (2011) Natriuretic peptide testing in heart failure. *Circulation*, **123** 2015–2019.

Klein I, Ojamaa K (2001) Thyroid hormone and the cardiovascular system. *New England Journal of Medicine*, **344**, 501–509.

- Kobori H, Ichihara A, Miyashita Y, Hayashi M, Saruta T (1999) Local renin-angiotensin system contributes to hyperthyroidism-induced cardiac hypertrophy. *Journal of Endocrinology*, **160**, 43–47.
- Kohno M, Horio T, Yasunari K, Yokokawa K, Ikeda M *et al.* (1993) Stimulation of brain natriuretic peptide release from the heart by thyroid hormone. *Metabolism*, **42**, 1059–1064.
- Kohno M, Horio T, Yokokawa K (1992) Brain natriuretic peptide as a cardiac hormone in essential hypertension. *American Journal of Medicine*, **92**, 29–34.
- Kormpou F, Gil-Morales C, Warren-Smith C, Hibbert A (2020) Concurrent thoracic pathology identified with radiology in hyperthyroid cats referred for radioiodine therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **22**, 966–976.
- Kuchel O, Buu NT, Hamet P, Larochelle P (1982) Hypertension in hyperthyroidism: is there an epinephrine connection? *Life Sciences*, **30**, 603–609.
- Lange RA, Hillis LD (2012) Toxins and the hearts. In: *Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 9th Edit., RO Bonnow, DL Mann, DP Zipes, P Libby, E Braunwald, Eds., Elsevier Saunders, Philadelphia, pp. 1628–1637.
- Langhorn R, Jessen LR, Kloster AS, Jensen AP, Koch J (2019) Cardiac troponin I in cats with compromised renal function. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **21**, 985–991.
- Leav I, Schiller AL, Rijnberk A, Legg MA, der Kinderen PJ (1976) Adenomas and carcinomas of the canine and feline thyroid. *The American Journal of Pathology*, **83**, 61–122.
- Liquori ME, Christenson RH, Collinson PO, Defilippi CR (2014) Cardiac biomarkers in heart failure. *Clinical Biochemistry*, **47**, 327–337

- Liu SK, Maron BJ, Tilley LP (1981) Feline hypertrophic cardiomyopathy: gross anatomic and quantitative histologic features. *American Journal of Pathology*, **102**, 388–395.
- Liu SK, Peterson ME, Fox PR (1984) Hypertrophic cardiomyopathy and hyperthyroidism in the cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **185**, 52–57.
- Luchner A, Stevens TL, Borgeson DD, Redfield M, Wei CM *et al.* (1998) Differential atrial and ventricular expression of myocardial BNP during evolution of heart failure. *American Journal of Physiology*, **274**, 1684–1689.
- Lucke VM (1964) A histological study of thyroid abnormalities in the domestic cat. *Journal of Small Animal Practice*, **5**, 351–358.
- MacKay AD, Holt PE and Sparkes AH (1999) Successful surgical treatment of a cat with primary aldosteronism. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **1**, 117–122.
- Maron MS, Olivotto I, Maron BJ, Prasad SK, Cecchi F *et al.* (2009) The case for myocardial ischemia in hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, **54**, 866–875.
- Maron BJ, Spirito P (1998) Implications of left ventricular remodeling in hypertrophic cardiomyopathy. *American Journal of Cardiology*, **81**, 1339–1344.
- Martínez Díaz F, Rodríguez-Morlensín M, Pérez-Cárceles MD, Noguera J, Luna A *et al.* (2005) Biochemical analysis and immunohistochemical determination of cardiac troponin for the postmortem diagnosis of myocardial damage. *Histology & Histopathology*, **20**, 475–481.
- Martinez-Rumayor A, Richards AM, Burnett JC, Januzzi Jr JL (2009) Biology of the natriuretic peptides. *American Journal of Cardiology*, **101**, 3–8.
- Menaut P, Connolly DJ, Volk A, Pace C, Luis Fuentes V *et al.* (2012) Circulating natriuretic peptide concentrations in hyperthyroid cats. *Journal of Small Animal*

*Practice*, **53**, 673–678.

Miura M, Kawano H, Yoshida T, Yamagata Y, Nakata T *et al.* (2017) The histological features of a myocardial biopsy specimen in a patient in the acute phase of reversible catecholamine-induced cardiomyopathy due to pheochromocytoma. *Internal medicine*, **56**, 665–671.

Moise NS, Dietze AE (1986) Echocardiographic, electrocardiographic, and radiographic detection of cardiomegaly in hyperthyroid cats. *American Journal of Veterinary Research*, **47**, 1487–1494.

Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H, Suga S, Komatsu Y *et al.* (1995) Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an "emergency" cardiac hormone against ventricular overload. *The Journal of Clinical Investigation*, **96**, 1280–1287.

Norsworthy GD, Adams VJ, McElhaney MR, Milios JA (2002) Relationship between semi-quantitative thyroid palpation and total thyroxine concentration in cats with and without hyperthyroidism. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **4**, 139–143.

O'Brien PJ (2008) Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity. *Toxicology*, **245**, 206–218.

Ommen SR (2011) Hypertrophic Cardiomyopathy. *Current Problems in Cardiology*, **36**, 409–453.

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

Oyama MA (2013) Using Cardiac Biomarkers in Veterinary Practice. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **43**, 1261–1272.

Paulin D, Li Z (2004) Desmin: a major intermediate filament protein essential for the

structural integrity and function of muscle. *Experimental Cell Research*, **301**, 1–7.

Peterson ME (2012) Hyperthyroidism in cats: what's causing this epidemic of thyroid disease and how can we prevent it? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **14**, 804–818.

Peterson ME, Broome MR, Rishniw M (2016) Prevalence and degree of thyroid pathology in hyperthyroid cats increases with disease duration: a cross-sectional analysis of 2096 cats referred for radioiodine therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **18**, 92–103.

Peterson ME, Kintzer PP, Cavanagh PG, Fox PR, Ferguson DC *et al.* (1983) Feline hyperthyroidism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 131 cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **183**, 103–110.

Radu RI, Bold A, Pop OT, Mălăescu DG, Gheorghişor I *et al.* (2012) Histological and immunohistochemical changes of the myocardium in dilated cardiomyopathy. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, **53**, 269–275.

Ramos-Vara JA, Miller MA (2014) When tissue antigens and antibodies get along: revisiting the technical aspects of immunohistochemistry--the red, brown, and blue technique. *Veterinary Pathology*, **51**, 42–87.

Robinson WF, Robinson NA (2016) Cardiovascular system. In: *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*, vol. 3, 6th Edit., MG Maxie, Ed., Elsevier, St Louis, pp. 46–48.

Rona G (1985) Catecholamine cardiotoxicity. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **17**, 291–306.

Rosol TJ, Meuten DJ (2017) Tumours of the endocrine glands. In: *Tumours in Domestic Animals*, 5th Edit., DJ Meuten, Ed., Wiley-Blackwell, Ames, pp. 791–809.

- Rossi A, Enriquez S, Burnett JC, Lerman A, Abel MD *et al.* (2000) Natriuretic peptide levels in atrial fibrillation: a prospective hormonal and Doppler-echocardiographic study. *Journal of the American College of Cardiology*, **35**, 1256–1262.
- Sangster JK, Panciera DL, Abbott JA, Zimmerman KC, Lantis AC (2014) Cardiac biomarkers in hyperthyroid cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **28**, 465–472.
- Salisbury SK (1991) Hyperthyroidism in cats. *The Compendium Collection*, **13**, 172–178.
- Santos AM, Peixoto PV, D'Ávila MS, Peixoto TC, França TN *et al.* (2016) Troponin C in immunohistochemical detection of early regressive myocardial lesions in cattle and sheep poisoned with sodium monofluoroacetate. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **36**, 67–72.
- Schulman RL (2010) Feline primary hyperaldosteronism. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **40**, 353–359.
- Scott-Moncrieff JC (2012) Thyroid disorders in the geriatric veterinary patient. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **42**, 707–725.
- Spalla I, Locatelli C, Riscazzi G, Santagostino S, Cremaschi E *et al.* (2016) Survival in cats with primary and secondary cardiomyopathies. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **18**, 501–509.
- Syme HM (2007) Cardiovascular and renal manifestations of hyperthyroidism. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **37**, 723–743.
- Takemura G, Fujiwara H, Mukoyama M, Saito Y, Nakao K *et al.* (1991) Expression and distribution of atrial natriuretic peptide in human hypertrophic ventricle of hypertensive hearts and hearts with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, **83**, 181–190.
- Tarazi RC, Dustan HP, Frohlich ED, Gefford RW Jr, Hoffman GC (1970) Plasma volume and chronic hypertension: relationship to arterial pressure levels in different

- hypertensive disease. *Archives of Internal Medicine*, **125**, 835–842.
- Tanabe A, Naruse M, Naruse K, Hase M, Yoshimoto T *et al.* (1997) Left ventricular hypertrophy is more prominent in patients with primary aldosteronism than in patients with other types of secondary hypertension. *Hypertension Research*, **20**, 85–90.
- Thoday KL, Mooney CT (1992) Historical, clinical and laboratory features of 126 hyperthyroid cats. *Veterinary Record*, **131**, 257–264.
- Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR *et al.* (2012) Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation*, **126**, 2020–2035.
- Trehou-Sechi E, Tissier R, Gouni V, Misbach C, Petit AM *et al.* (2012) Comparative echocardiographic and clinical features of hypertrophic cardiomyopathy in 5 breeds of cats: a retrospective analysis of 344 cases (2001–2011). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **26**, 532–541.
- van Kimmenade RR, Januzzi JL Jr. (2009) The evolution of the natriuretic peptides - Current applications in human and animal medicine. *Journal of Veterinary Cardiology*, **11(Suppl 1)**, S9–21.
- Varnava AM, Elliott PM, Mahon N, Davies MJ, McKenna WJ (2001) Relation between myocyte disarray and outcome in hypertrophic cardiomyopathy. *The American Journal of Cardiology*. **88**, 275–279.
- Watson N, Murray JK, Fonfara S, Hibbert A (2018) Clinicopathological features and comorbidities of cats with mild, moderate or severe hyperthyroidism: a radioiodine referral population. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **20**, 1130–1137.
- White HD (2011) Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? *Journal of the American College of Cardiology*, **57**, 2406–2408.
- Yonezawa LA, Silveira VF, Machado LP, Kohayagawa A (2010) Marcadores cardíacos



na medicina veterinária. *Ciência Rural*, **40**, 222–230.

### 3.3 Artigo 3

#### **Aspectos patológicos e avaliação imuno-histoquímica da troponina C no sistema cardiovascular de cães com feocromocitoma**

Artigo a ser submetido para o periódico “*Journal of Comparative Pathology*”.

**SPONTANEOUSLY ARISING DISEASE****Short title: Cardiovascular Lesions in Dogs with Pheochromocytoma****Short running head: FF Argenta *et al*****Pathological Aspects and Immunohistochemical Evaluation of Troponin C in the  
Cardiovascular System of Dogs with Pheochromocytoma****Fernando F Argenta<sup>\*</sup>, Mônica Slaviero<sup>\*</sup>, Lauren S de Mello<sup>\*</sup>, Joanna V Z Echenique<sup>\*</sup>,  
Alexia A Zorzan<sup>\*</sup>, Fernanda G Cony<sup>\*</sup>, Marcele B Bandinelli<sup>\*</sup>, Márcio B de Castro<sup>§</sup>,  
Saulo P Pavarini<sup>\*</sup>, David Driemeier<sup>\*</sup>, Luciana Sonne<sup>\*</sup>**

*<sup>\*</sup>Setor de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. <sup>§</sup>Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-970, Brasília, DF, Brazil.*

Correspondence to: F.F. Argenta (e-mail: nando.arg83@gmail.com).

## Resumo

Este trabalho caracterizou os aspectos patológicos do sistema cardiovascular e avaliou a expressão da troponina C cardíaca através da análise imuno-histoquímica no coração de cães com feocromocitoma. Foram identificados 12 cães com a idade média de 10,6 anos, com diagnóstico de feocromocitoma e que apresentavam lesões cardiovasculares concomitantes ao neoplasma. O diagnóstico de feocromocitoma foi confirmado principalmente pela marcação para os anticorpos neuroendócrinos e para tirosina hidroxilase. Macroscopicamente, o coração de todos os cães estava aumentado e com hipertrofia concêntrica do miocárdio do ventrículo esquerdo. Histologicamente, observou no miocárdio, necrose e degeneração de cardiomiócitos, com frequentes bandas de contração, além de fibrose, infiltrado inflamatório e espessamento da parede de vasos sanguíneos. Na IHQ para troponina C houve acentuada diminuição ou ausência de imunomarcação multifocalmente em cardiomiócitos necróticos. A IHQ para a troponina C mostrou ser uma ferramenta útil para a detecção de necrose miocárdica em cães com diagnósticos de feocromocitoma..

*Palavras-chave:* caninos, imuno-histoquímica, cardiomiopatia, feocromocitoma, catecolaminas, tirosina hidroxilase

## Introdução

Feocromocitomas são neoplasmas originados das células cromafins da região medular da adrenal, as quais sintetizam as catecolaminas epinefrina, norepinefrina e dopamina (Gu *et al.* 2017). Os feocromocitomas funcionais em cães estão associados à ocorrência de alterações cardiovasculares relacionadas à secreção excessiva de catecolaminas, principalmente norepinefrina (Edmondson *et al.* 2015; Rosol e Meuten, 2017). A patogênese da cardiomiopatia induzida por catecolaminas é complexa e o exato mecanismo das lesões no miocárdio induzida pelas catecolaminas é desconhecido, porém sugere-se um efeito tóxico direto (Rona, 1985; Kassim *et al.* 2008; Adameova *et al.* 2009; Dhalla *et al.* 2010; Lange e Hillis, 2012).

A técnica de imuno-histoquímica (IHQ) pode ser utilizada como um método diagnóstico das doenças cardíacas e tem sido aplicada para auxiliar na detecção de lesão miocárdica (Ortmann *et al.* 2000; Martínez-Díaz *et al.* 2005). As troponinas são marcadores altamente específicos de lesão celular e são utilizados para evidenciar lesão em cardiomiócitos (Godoy *et al.* 1998; O'Brien, 2008).

Diversas pesquisas descrevem o envolvimento do feocromocitoma com lesões cardiovasculares em humanos (Schürmeyer *et al.* 1997; Kassim *et al.* 2008; Batisse-Lignier *et al.* 2015; Gu *et al.* 2017; Miura *et al.* 2017; Zhang *et al.* 2017). A associação destas condições é descrita na literatura veterinária em cães, leopardos e primatas não humanos (Twedt e Wheeler, 1984; Dias *et al.* 1996; Brack, 2000; Vogel e Fritz, 2003; Juan-Sallés *et al.* 2009; Marcasso *et al.* 2011; Mak e Allen, 2013; Edmondson *et al.* 2015; Colgin *et al.* 2016; Corner *et al.* 2017), porém são escassos os dados relacionados com as alterações patológicas (Edmondson *et al.* 2015). Portanto, este trabalho tem como objetivo caracterizar os aspectos

patológicos cardiovasculares e avaliar a expressão da troponina C cardíaca através da análise imuno-histoquímica no coração de cães com feocromocitoma.

### **Material e métodos**

Foram revisados os relatórios de necropsias arquivados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2019. O banco de dados foi pesquisado por casos com base na combinação de palavras-chave como “caninos”, “cães”, “adrenal”, “neoplasia” e “feocromocitoma” no diagnóstico. A inclusão dos casos foi baseada no diagnóstico definido de feocromocitoma de acordo com os critérios histológicos estabelecidos na literatura (Rosol e Meuten, 2017). Foram excluídos do presente estudo cães que no exame de necropsia identificaram-se doenças cardiovasculares primárias, como endocardiose, alterações congênitas, neoplasmas primários e/ou metastáticos, endocardites infecciosas, além de casos de doença/insuficiência renal crônica.

No período estudado o Setor de Patologia Veterinária realizou necropsias de 34 cães com diagnóstico de feocromocitoma e em 12 destes, foram identificadas lesões cardiovasculares concomitantes e sem outra alteração cardiovascular definida (primária) ou doença renal estabelecida através da análise anatomopatológica. Os dados referentes à identificação do animal, como idade, sexo e raça, além das lesões macroscópicas foram analisados e compilados.

Dos 12 casos selecionados, foi realizada a busca dos blocos de parafina arquivados para a confecção de lâminas histológicas com cortes de 3 $\mu$ m, para posterior coloração pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) e visualização por microscopia óptica. Cortes histológicos do ventrículo esquerdo foram submetidos às técnicas histoquímicas de tricrômico de Masson (TM) e para hematoxilina ácida fosfotúngstica (PTAH). Os resultados histológicos e histoquímicos foram categorizados conforme a intensidade da lesão da seguinte forma:

discreta, moderada e acentuada.

Secções do ventrículo esquerdo foram submetidas à IHQ anti-troponina C cardíaca humana. Secções dos feocromocitomas foram submetidas à IHQ para os anticorpos neuroendócrinos (cromogranina A, sinaptofisina e enolase neurônio específica) e tirosina hidroxilase. Os resultados imuno-histoquímicos foram avaliados por dois patologistas através de um método estimado (semiquantitativo) da quantidade de células marcadas (cromogranina A, enolase neurônio específica, sinaptofisina e tirosina hidroxilase), ou com diminuição e/ou ausência da imunorreação (troponina C). Esses resultados foram categorizados da seguinte forma: discreta: 5 a 20% de células; moderada: 21 a 50% de células e acentuada: mais de 50% das células. Simultaneamente foram incluídos controles positivos previamente testados. Para o controle negativo substituiu-se o anticorpo primário por um anticorpo irrelevante (Ramos-Vara e Miller, 2014). Na Tabela 1 estão detalhados os protocolos imuno-histoquímicos aplicados.

**Tabela 1.**

**Anticorpos e protocolos imuno-histoquímicos aplicados em secções do coração e dos neoplasmas de cães com feocromocitoma.**

<i>Anticorpo</i>	<i>Diluição</i>	<i>Recuperação antigênica</i>	<i>Cromógeno</i>	<i>Controle</i>
Cromogranina A (DAK-A3, Dako, Califórnia, EUA)	1:500	Citrato pH 6.0, panela de pressão 96°C, 40'	DAB (Dako)	Adrenal canina
Enolase neurônio específica (BBS/NC/VI-H14, Dako)	1:200	Citrato pH 6.0, panela de pressão 96°C, 40'	AEC (Biocare Medical, Pacheco, Califórnia, EUA)	Adrenal canina
Sinaptofisina (DAK-SYNAP, Dako)	pronto para uso	Citrato pH 6.0, panela de pressão 96°C, 40'	AEC	Pâncreas canino
Tirosina hidroxilase (AB152, Merck, Darmstadt, Alemanha)	1:500	Tris EDTA pH 9.0, banho maria, 96°C, 40'	DAB	Sistema nervoso central de rato
Troponina C cardíaca humana (IAE, Novocastra, Newcastle, Reino Unido)	1:40	Tris EDTA pH 9.0, panela de pressão 125°C, 3'	AEC	Ventrículo esquerdo canino

AEC: 3-amino-9-etilcarbazol; DAB: 3,3'-diaminobenzidina.

### Resultados

No período estudado, o Setor de Patologia Veterinária realizou 34 necropsias de cães com feocromocitoma, destes 12 (35,3%) apresentavam lesões cardiovasculares concomitantes ao neoplasma e sem outra alteração cardiovascular estabelecida. A idade média foi de 10,6 anos (mediana de 10,5 anos) e em 83,3% acometeram cães de raças definidas, mais comumente Rottweiler e Yorkshire terrier. Machos representaram 58,3% dos casos, e as



fêmeas 41,7%. Macroscopicamente, os feocromocitomas eram caracterizados por nódulos localizados na área central da glândula adrenal com compressão das estruturas adjacentes, de tamanhos variados, multilobulares, macios à palpação e vermelhos entremeadas por discretas áreas esbranquiçadas. Áreas de necrose e hemorragia frequentemente estavam presentes. A apresentação unilateral foi identificada em 83,3%, sendo a adrenal esquerda mais frequentemente acometida. Nos casos restantes (16,7%), identificou a apresentação bilateral do neoplasma. Em 33,3% dos cães foram identificadas invasão para a veia cava (Fig 1) e metástases linfáticas e/ou hematógenas, nos quais os linfonodos regionais (linfocentro celíaco e lombar) foram os principais sítios. Informações detalhadas sobre a idade, sexo, raça, principais características morfológicas do feocromocitoma estão descritas na Tabela 2.

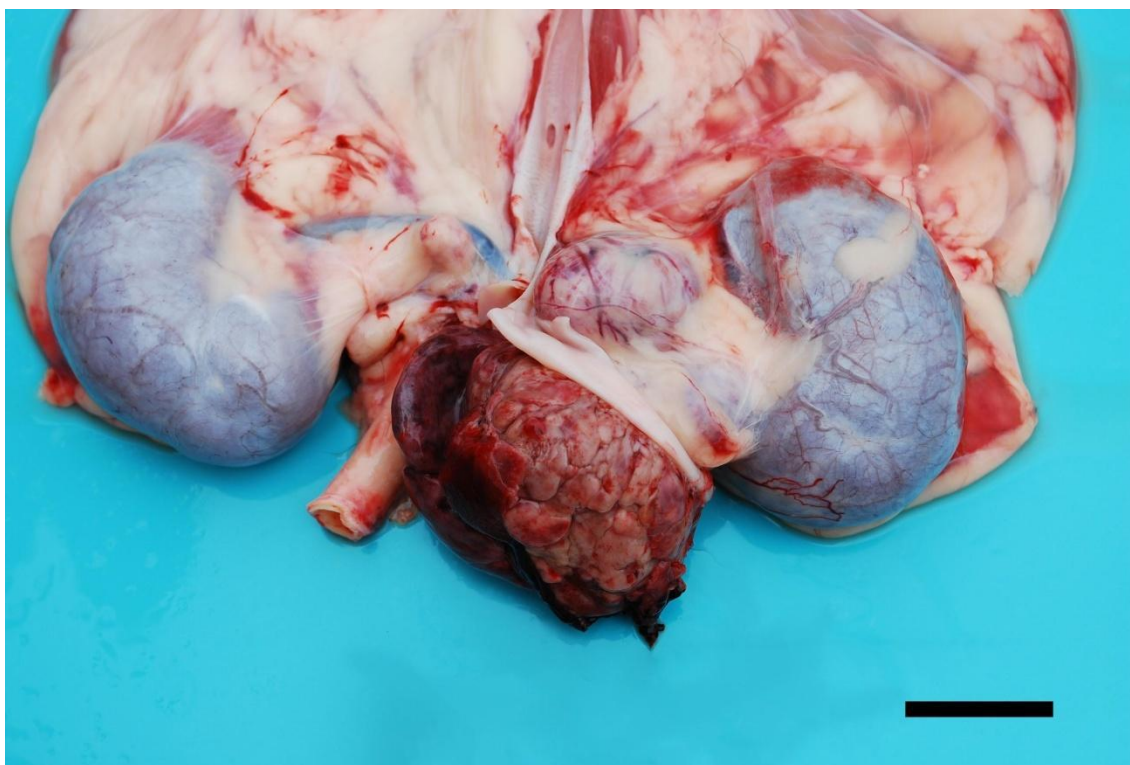


Fig. 1. Aspectos macroscópicos do feocromocitoma em cães. Nódulo vermelho na região da adrenal e com invasão na veia cava. Barra 3,0 cm.

Tabela 2

Dados referentes à idade, raça e sexo de cães com feocromocitoma, além das principais características morfológicas tumorais.

Caso	Dados de identificação			Características morfológicas do feocromocitoma			
	Idade (anos)	Raça	Sexo	Localização	Tamanho	Invasão na veia cava	Metástase
1	5	Rottweiler	M	Adrenal esquerda	7,0 x 4,5 x 4,0 cm	Não	NI
2	11	Rottweiler	M	Bilateral	3,5 x 2,5 x 2,0 (esquerda); 1,0 x 0,8 x 0,8 cm (direita)	Sim	Linfonodos regionais <sup>s</sup> e fígado
3	16	Pastor alemão	M	Adrenal esquerda	10,5 x 10,0 x 9,0 cm	Não	NI
4	7	SRD	F	Adrenal esquerda	5,0 x 2,5 x 3,0 cm	Não	NI
5	10	Lhasa Apso	M	Adrenal esquerda	3,0 x 3,0 x 2,5 cm	Não	NI
6	6	Yorkshire terrier	M	Adrenal esquerda	5,0 x 3,0 x 2,0 cm	Sim	Linfonodos regionais, rins, pulmões, pâncreas e medula óssea
7	14	Husky siberiano	F	Bilateral	8,0 x 5,0 x 5,0 cm (esquerda); 2,5 x 1,0 x 0,8cm (direita)	Sim	NI
8	11	Dachshund	M	Adrenal direita	4,0 x 2,0 x 2,5 cm	Não	NI
9	9	Yorkshire terrier	F	Adrenal direita	3,4 x 3,0 x 2,5 cm	Não	NI

10	10	SRD	F	Adrenal esquerda	14,0 x 13,5 x 4,2 cm	Sim	NI
11	16	Boxer	M	Adrenal direita	2,5 x 1,0 x 1,0 cm	Não	Linfonodos regionais
12	12	American pit bull terrier	F	Adrenal esquerda	1,3 x 1,0 x 0,8 cm	Não	NI

M: macho; F: fêmea. NI: não identificado; SRD: sem raça definida; §: linfocentro celíaco e lombar.

Macroscopicamente, o coração de todos os cães estava aumentado (Fig 2A) e apresentavam por hipertrofia concêntrica do miocárdio do ventrículo esquerdo com consequente redução da câmara ventricular esquerda (Fig 2B). Dilatação do átrio esquerdo e do ventrículo direito foram observados em 75% e 50% dos cães, respectivamente. Áreas esbranquiçadas multifocais sugerindo fibrose no miocárdio predominantemente no ventrículo esquerdo foram visualizadas em 58,3% dos cães. Em 16,7% dos casos foram visualizadas hemorragias multifocais, caracterizadas por áreas parcialmente delimitadas e vermelhas no miocárdio do ventrículo esquerdo. Em relação às lesões extra cardíacas, todos os cães apresentaram graus variados de edema e congestão pulmonares. Ascite e congestão passiva crônica hepática, hidrotórax e hidropericárdio foram detectados em 35,7%, 21,4% e 7,1% dos cães, respectivamente.

Histologicamente, o miocárdio de todos os casos apresentaram graus variados de necrose e degeneração de cardiomiócitos individuais ou em grupos multifocais, caracterizados por retração celular, hipereosinofilia, citoplasma homogêneo com perda das estriações e núcleo com condensação da cromatina (picnose), por vezes, com fragmentação (cariorrexia) ou ausência nuclear (cariólise) (Fig 3A). Frequentemente foi identificada fragmentação celular, degeneração vacuolar e bandas amorfas transversais eosinofílicas (bandas de contração) nos cardiomiócitos (Fig 3B). Estas lesões foram graduadas como

discretas em 41,7%, acentuadas em 33,3%, e moderadas em 25% dos casos. A fibrose multifocal a coalescente entremeando os cardiomiócitos necróticos e degenerados, além de discreto a moderado infiltrado inflamatório multifocal composto por neutrófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos foram identificados em 91,7% dos casos (Fig 3C). A proliferação de tecido conjuntivo fibroso foi evidenciada pela intensa coloração azul através do TM (Fig 3D). Hipertrofia de cardiomiócitos e hemorragia multifocal moderada foram descritas em 58,3% e 33,3% dos cães do presente estudo, respectivamente. A hipertrofia foi caracterizada por discreto a moderado aumento dos cardiomiócitos em áreas adjacentes à necrose, que ocasionalmente apresentavam macrocariose e entrelaçamento entre as miofibras de distribuição multifocal. Através da técnica histoquímica PTAH, nas áreas de necrose foi identificada perda da organização miofibrilar e fragmentação dos cardiomiócitos com aspecto granular (Fig 4). Em 75% dos casos, observou vasos sanguíneos, predominantemente artérias de calibre médio no miocárdio, com espessamento moderado, resultante da proliferação fibroelástica principalmente em túnica média.

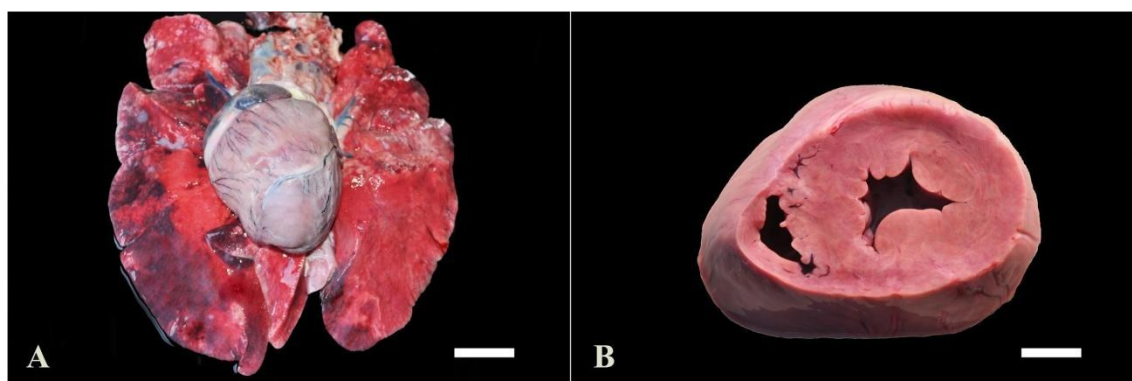


Fig. 2. Aspecto macroscópico do coração de cães com feocromocitoma. (A) Coração aumentado. Observa-se pulmões brilhantes e com áreas multifocais vermelhas. Barra 3,45cm. (B) Corte transversal do coração com moderada hipertrofia miocárdica das paredes livres do ventrículo esquerdo e do septo interventricular com conseqüente redução da câmara ventricular. Barra 2,0 cm

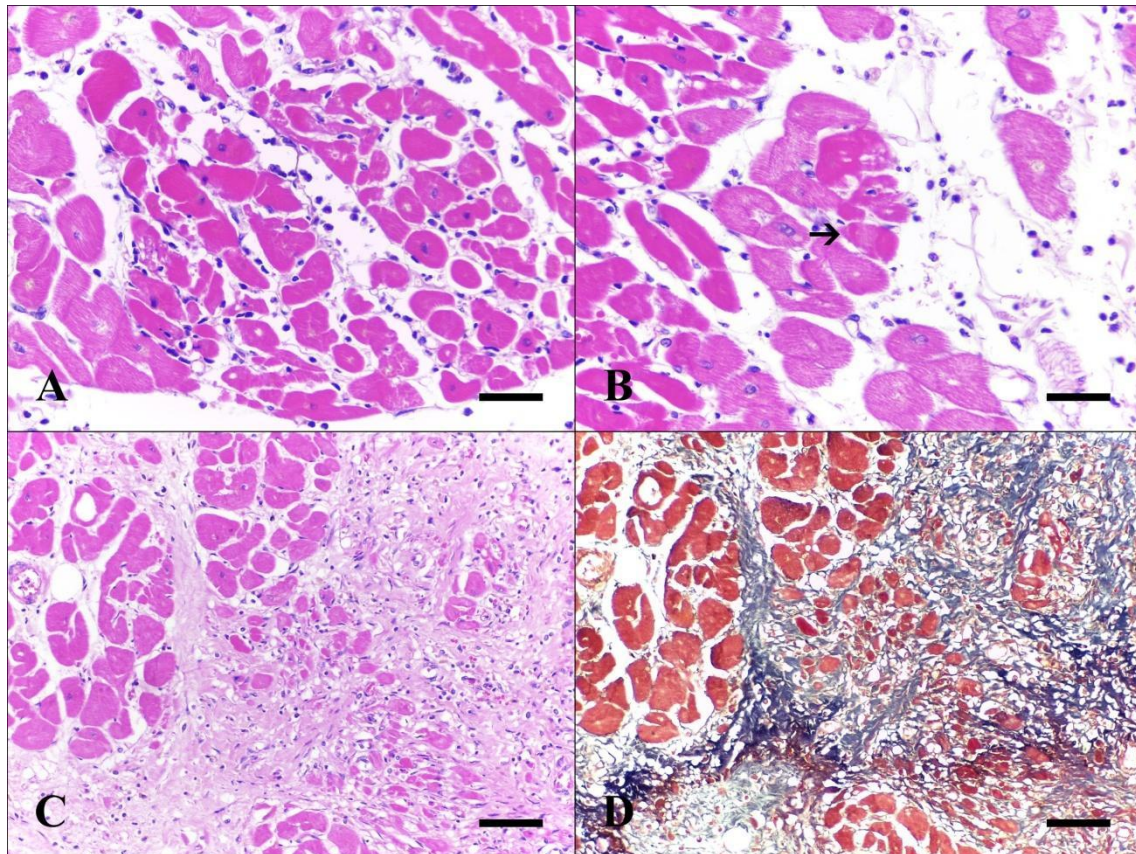


Fig. 3. Aspectos microscópicos do coração de cães com feocromocitoma. (A) Área focalmente extensa de necrose e degeneração de cardiomiócitos no miocárdio do ventrículo esquerdo, caracterizados por retração celular, hipereosinofilia, citoplasma homogêneo com perda das estriações e núcleo com condensação da cromatina, por vezes, com fragmentação ou ausência nuclear. Ainda, visualiza-se discreto infiltrado inflamatório intersticial constituído por linfócitos, plasmócitos e macrófagos. HE. Barra, 120  $\mu$ m. (B) Fragmentação celular, degeneração vacuolar e bandas de contração nos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo (seta). HE. Barra, 60  $\mu$ m. (C) Intensa fibrose intersticial multifocal a coalescente entremeando os cardiomiócitos do ventrículo esquerdo. HE. Barra, 120  $\mu$ m. (D) Fibrose multifocal a coalescente fortemente corada de azul pelo tricrômico de Masson. TM. Barra, 120  $\mu$ m.

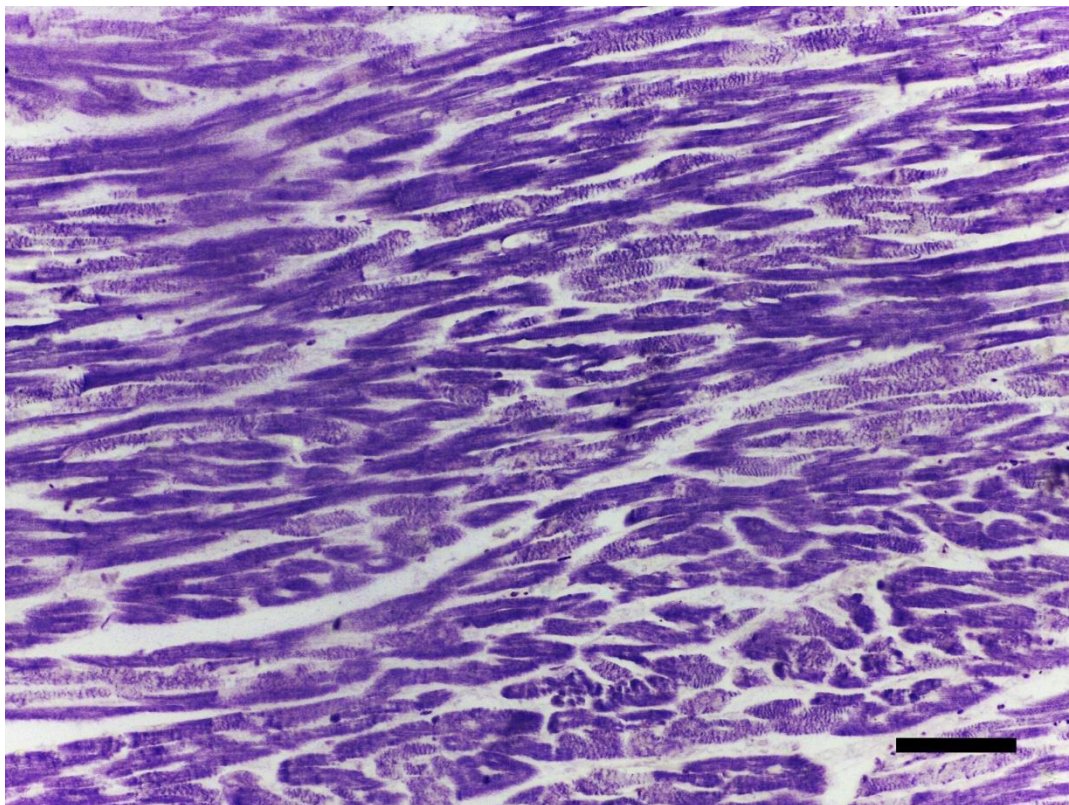


Fig. 4. Secção do miocárdio do ventrículo esquerdo com fragmentação citoplasmática multifocal de cardiomiócitos em um cão com diagnóstico de feocromocitoma. PTAH. Barra, 120 $\mu$ m.

Na avaliação IHQ para o anticorpo troponina C cardíaca humana houve acentuada diminuição ou ausência de imunomarcagem multifocalmente em cardiomiócitos necróticos (Fig 5). Observou-se diminuição discreta da imunorreação em cardiomiócitos sem lesões histológicas evidentes. Nas áreas onde o tecido cardíaco foi substituído por fibrose, não foi identificada imunorreação para este anticorpo. No caso controle, os cardiomiócitos apresentaram expressão difusa acentuada para troponina C cardíaca humana. Os controles negativos sem anticorpo primário não exibiram imunorreatividade.

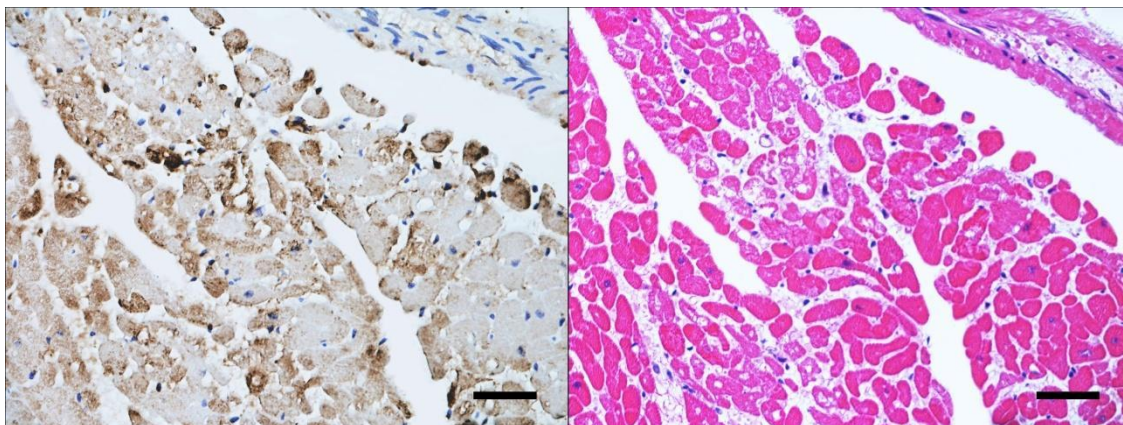


Fig. 5. Aspectos imuno-histoquímico para troponina C cardíaca humana em corte seriado do miocárdio de cão com feocromocitoma. Diminuição e ausência de marcação para troponina C cardíaca humana em múltiplos cardiomiócitos. IHQ. Barra, 120  $\mu$ m.

À histologia essas áreas são caracterizadas por fibras retraídas e hipereosinofílicas, além de fragmentação celular e bandas de contração. HE. Barra, 120  $\mu$ m.

O diagnóstico de feocromocitoma foi realizado pela histologia e confirmado através dos resultados imuno-histoquímicos. Na avaliação imuno-histoquímica para os anticorpos cromogranina A (Fig 6), sinaptofisina (Fig 6B), enolase neurônio específica (Fig 6C) e tirosina hidroxilase (Fig 6D), em todos os casos as células neoplásicas exibiram imunomarcação intracitoplasmática multifocal com intensidade da marcação variável para todos os anticorpos. Os controles negativos não exibiram imunorreatividade. Na Tabela 3. estão descritas as graduações da avaliação IHQ em feocromocitomas de cães.

**Tabela 3**  
**Características imuno-histoquímicas e graduações de marcação em**  
**feocromocitomas de cães.**

Casos	Anticorpos			
	<i>Cro. A</i>	<i>ENE</i>	<i>Sin</i>	<i>TH</i>
1	+	++	+	+
2	+++	+++	+++	++
3	+++	+	+	+++
4	+	+++	+++	+++
5	+	+++	+++	+
6	+	+++	+++	+++
7	+	+++	+++	+++
8	+	+	+++	+++
9	+	+++	+++	+++
10	+	+	+	+
11	+	+++	+++	++
12	+	++	+++	++

Cro. A: cromogranina A; ENE: enolase neurônio específica; Sin: sinaptofisina;

TH: tirosina hidroxilase; \*+ = leve (5-20% das células tumorais imunomarcadas);

++ = moderado (21-50% das células tumorais imunomarcadas); +++ = marcado

(> 50% das células tumorais imunomarcadas);



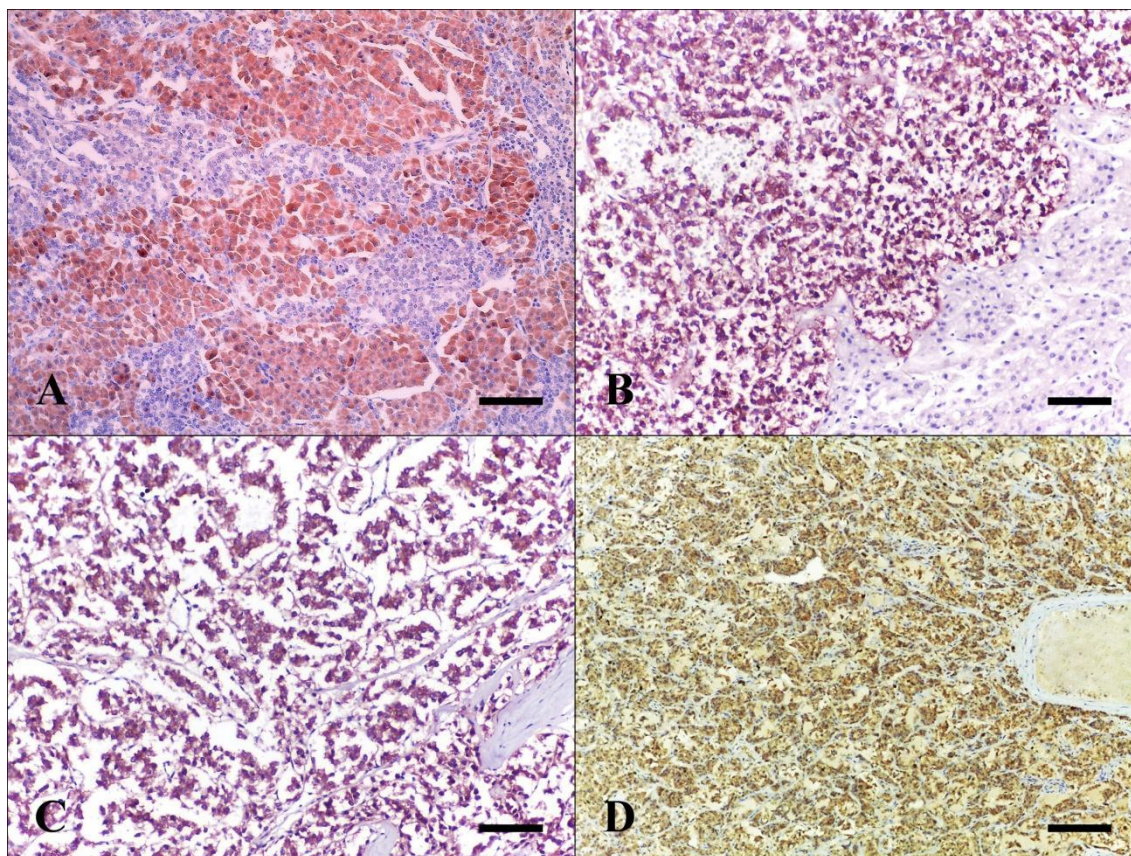


Fig. 6. Aspectos imuno-histoquímicos de feocromocitoma em cães. (A) Imunoexpressão para cromogranina A intracitoplasmática e intensa multifocalmente nas células neoplásicas. IHQ. Bar, 120  $\mu$ m. (B) Imunorreação intracitoplasmática multifocal e acentuada para sinaptofisina nas células neoplásicas da medular da adrenal. IHQ. Bar, 120  $\mu$ m. (C) Intensa marcação intracitoplasmática multifocal para enolase neurônio específica nas células neoplásicas. IHQ. Bar, 120  $\mu$ m. (D) Proliferação de células cromafins com intensa marcação citoplasmática multifocal para tirosina hidroxilase. IHQ. Bar, 240  $\mu$ m.

### Discussão

As alterações cardiovasculares em pacientes com feocromocitoma são relatadas na literatura humana e veterinária, e pesquisadores sugerem que estas lesões estão relacionadas à excreção excessiva de catecolaminas pelas células tumorais (Twedt e

Wheeler, 1984; Vogel e Fritz, 2003; Kassim *et al.* 2008; Prejbisz *et al.* 2011; Park *et al.* 2011; Mak e Allen, 2013; Batisse-Lignier *et al.* 2015; Edmondson *et al.* 2015; Colgin *et al.* 2016; Corner *et al.* 2016; Gu *et al.* 2017; Miura *et al.* 2017; Zhang *et al.* 2017). Esses neoplasmas acometem geralmente em cães idosos (Twedt e Wheeler, 1984; Gilson *et al.* 1994; Barthez *et al.* 1997), assim como identificado no presente estudo. Lesões cardiovasculares foram observadas em uma frequência maior (35,3%) quando comparada à literatura, que cita uma frequência de 15% (Edmondson *et al.* 2015). Em humanos, a ocorrência de cardiomiopatia induzida por catecolaminas varia de 10 a 20% (Park *et al.* 2011; Zelinka *et al.* 2012; Pappachan *et al.* 2014).

Cardiomegalia e hipertrofia cardíaca identificadas através dos exames de imagem e necropsia são frequentemente relatadas em pacientes com feocromocitomas funcionais (Twedt e Wheeler, 1984; Barthez *et al.* 1997; Vogel e Fritz, 2003; Marcasso *et al.* 2011; Park *et al.* 2011; Prejbisz *et al.* 2011; Batisse-Lignier *et al.* 2015; Edmonson *et al.* 2015; Zhang *et al.* 2017). A dilatação do ventrículo direito e atrial consequentes da hipertrofia do miocárdio ventricular esquerdo, além de áreas multifocais pálidas no miocárdio relacionadas ao grau de fibrose também foram descritos na cardiomiopatia associada ao feocromocitoma (Vogel e Fritz, 2003; Marcasso *et al.* 2011; Gilson *et al.* 1994; Batisse-Lignier *et al.* 2015), e estes dados corroboram com o presente estudo. As alterações macroscópicas identificadas no coração podem estar relacionadas ao aumento da frequência cardíaca, força das contrações e da pós-carga cardíaca geradas pelo excesso de catecolaminas (Adameova *et al.* 2009). Esse excesso também cursa com hipertensão arterial sistêmica e consequente sobrecarga de pressão, no qual induz hipertrofia de cardiomiócitos (Jacob *et al.* 1994).

Edema e congestão pulmonares foram as principais lesões extracardíacas identificadas no presente estudo e são descritas na literatura (Twedt e Wheeler, 1984;

Marcasso *et al.* 2011; Barthez *et al.* 1997; Prejbisz *et al.* 2011; Batisse-Lignier *et al.* 2015; Zhang *et al.* 2017). A formação de edema ocorre principalmente pelo aumento da pressão hidrostática decorrente da estase do fluxo sanguíneo (Robinson e Robinson, 2016). Apesar de infrequente, o edema pulmonar também pode ser atribuído a um efeito direto das catecolaminas nos pulmões (Westphal *et al.* 2004).

Histologicamente, diversos autores descrevem necrose de cardiomiócitos, frequentemente com bandas de contração, fibrose intersticial, infiltrado inflamatório e espessamento da parede dos vasos sanguíneos (Van Vleet e Ferrans, 1986; Kassim *et al.* 2008; Jenkins *et al.* 2010; Mak e Allen, 2013; Miura *et al.* 2017; Rosol e Meuten, 2017), semelhante aos achados descritos no presente estudo. Os efeitos diretos e indiretos do excesso das catecolaminas causam isquemia no miocárdio, e pode estar associado ao infiltrado inflamatório. Nas lesões mais crônicas, observa-se degeneração miofibrilar e formação de tecido fibroso (Kassim *et al.* 2008). A necrose em bandas de contração foi um achado comum nos cães deste estudo, e autores relatam que essa é a principal lesão histológica em pacientes com excesso de catecolaminas circulantes (Pappachan *et al.* 2014; Edmonson *et al.* 2015; Miura *et al.* 2017). As bandas de contração referem-se a um padrão histológico específico, são sarcômeros hiper contraídos e caracterizam-se por bandas espessas, irregulares e eosinofílicas (Jiang e Downing, 1990; Robinson e Robinson, 2016). Pesquisadores descrevem a perda da organização miofibrilar e fragmentação de aspecto granular do sarcoplasma através da coloração de PTAH nos corações de cães com feocromocitoma (Edmonson *et al.* 2015) e experimentalmente em cães submetidos a aplicação de catecolamina (Todd *et al.* 1985). O espessamento da parede de vasos sanguíneos foi um achado histológico relativamente frequente no presente estudo, o que sugere hipertensão (Juan-Sallés *et al.* 2009; Edmonson *et al.* 2015; Colgin *et al.* 2016; Corner *et al.* 2017). Entretanto, não foi

possível definir se as lesões observadas resultam da hipertensão induzida pelas catecolaminas em vez de seu efeito tóxico direto no miocárdio (Edmonson *et al.* 2015). A hipertrofia de cardiomiócitos foi um achado comum nesse estudo, o que contrasta com pesquisas anteriores nos quais autores ocasionalmente descreveram esta alteração (Vogel e Fritz, 2003; Edmondson *et al.* 2015). Uma hipótese para a hipertrofia comumente identificada no presente estudo está relacionada às alterações vasculares frequentes com consequente aumento da demanda de débito cardíaco e da resistência vascular periférica (Robinson e Robinson, 2016).

Os achados histológicos descritos neste estudo não são definitivos de cardiotoxicidade por excesso de catecolaminas, porém, estudos experimentais com administração de catecolaminas exógenas produziram alterações histológicas semelhantes e sustentam a hipótese de que as lesões detectadas nos cães deste estudo foram decorrentes do excesso de catecolaminas produzidas pelos feocromocitomas (Rona, 1985; Todd *et al.* 1985; Khullar *et al.* 1989; Jiang e Downing, 1990; Kassim *et al.* 2008). Entretanto, a principal limitação deste estudo se deve ao fato de tratar-se de uma análise retrospectiva e deste modo inviabilizar a correlação entre detecção dos níveis de catecolamina no sangue e/ou urina, e dados sobre a pressão arterial sistólica dos cães analisados, pois estes dados não constavam nas requisições de necropsia. Na veterinária, raramente são usados testes específicos na rotina clínica para a identificação do aumento das concentrações de catecolaminas, em razão da disponibilidade limitada, falta de dados de referência, alto custo e qualidade da amostra (Maher e McNiel, 1997).

Os cães do presente estudo não apresentavam evidências de outras alterações que pudessem causar necrose miocárdica, como a cardiomiopatia relacionada à lesão neural, infecções com o agente etiológico definido (bactérias, *Dirofilaria immitis*, fungos, herpesvírus canino, *Leishmania* spp., *Neospora caninum*, parvovírus canino, *Prototheca*

spp., *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma cruzi*) (Carretón *et al.* 2012; Edmonson *et al.* 2015; Robinson e Robinson, 2016; Miller e Gal, 2017; Sonne *et al.* 2017), torção gástrica, pancreatite necrosante aguda e peritonite séptica (Robinson e Robinson, 2016). Diversas causas tóxicas e administração de agentes antineoplásicos podem desenvolver necrose de cardiomiócitos (Robinson e Robinson, 2016; Miller e Gal, 2017), porém os dados relacionados à administração e/ou exposição às substâncias cardiotoxicas não constavam nas requisições de necropsia. Outro fator a ser levado em consideração é que as alterações cardiovasculares identificadas podem ser decorrentes de uma cardiomiopatia primária e não estar relacionadas às catecolaminas (Edmonson *et al.* 2015; Robinson e Robinson, 2016; Miller e Gal, 2017); entretanto, a principal forma morfológica da cardiomiopatia idiopática em cães é a dilatada e histologicamente apresenta-se com cardiomiócitos finos e ondulados (Robinson e Robinson, 2016), diferentemente ao observado nos cães avaliados.

As lesões cardiovasculares podem ainda estar relacionadas à hipertensão primária, entretanto, essa forma é extremamente rara em animais domésticos (Robinson e Robinson, 2016). Ainda em relação à hipertensão arterial sistêmica, os cães do presente estudo não apresentaram outras alterações patológicas relacionadas à forma secundária da condição, como hipotireoidismo, hipertireoidismo, diabetes mellitus, hiperadrenocorticismo e hiperaldosteronismo. Animais com doença renal crônica foram excluídos do presente estudo; ainda, nenhum cão apresentou descrição nas requisições de necropsia referente à utilização de agentes terapêuticos e tóxicos associados à hipertensão secundária (Acierno *et al.* 2018).

As troponinas cardíacas são proteínas que compõem o aparelho contrátil do miocárdio e são marcadores sensíveis e específicos de lesão cardíaca (Godoy *et al.* 1998; Martínez-Díaz *et al.* 2005; O'Brien, 2008). Diversos mecanismos fisiopatológicos

são responsáveis pela liberação das troponinas cardíacas, entretanto, o fator mais importante é a morte celular (White, 2011; Thygesen *et al.* 2012). Cardiomiócitos necróticos apresentam uma marcação diminuída ou ausente, enquanto fibras cardíacas hígdas são positivas na técnica IHQ para as troponinas cardíacas (Ortmann *et al.* 2000; Fishbein *et al.* 2003; Jenkins *et al.* 2010; Bandinelli *et al.* 2014; Costa *et al.* 2016; Santos *et al.* 2016), igualmente como observado neste estudo. Alguns cardiomiócitos sem alterações morfológicas significativas na avaliação histológica também demonstraram diminuição da marcação para a troponina C no presente estudo. Esse dado corrobora com diversos autores, onde sugerem que a detecção IHQ das troponinas no tecido miocárdico é mais sensível e específica em comparação com a coloração de hematoxilina e eosina, principalmente nas lesões incipientes (Ribeiro-Silva *et al.* 2002; Costa *et al.* 2016). No miocárdio, a morte celular não ocorre instantaneamente no início da isquemia, e algumas horas são necessárias para que a necrose miocárdica possa ser identificada no exame histológico padrão (Hu *et al.* 1996). Além disso, alterações cardíacas incipientes são de difícil interpretação e devem ser diferenciadas do artefato resultante da hipercontração de miofibras ocasionada pelo fixador (Santos *et al.* 2016).

No presente estudo, todos os feocromocitomas apresentaram marcação imuno-histoquímica para tirosina hidroxilase semelhante ao descrito na literatura (Lloyd *et al.* 1986; Osamura *et al.* 1990; Kimura, 1991; Kimura *et al.* 1992; Iwase *et al.* 1994; Tischler *et al.* 1996; Hill *et al.* 2003; Meijer *et al.* 2003; Konosu-Fukaya *et al.* 2018). A biossíntese das catecolaminas consiste em várias etapas enzimáticas em série e a tirosina hidroxilase é considerada uma enzima limitante da taxa de formação de catecolaminas. Essa enzima é altamente ativa nos feocromocitomas e sugere-se que a capacidade do tumor de sintetizar catecolaminas em excesso pode estar relacionada com os níveis de tirosina hidroxilase (Nagatsu *et al.* 1972; Nakada *et al.* 1988; Kimura *et al.* 1992; Tümer

*et al.* 1996). Hill *et al.* (2003) relataram que os feocromocitomas podem funcionar de forma semelhante à medula adrenal normal na síntese de catecolaminas.

Pesquisadores descrevem que a imunomarcagem para tirosina hidroxilase é fortemente positiva em feocromocitomas que produzem altos níveis de catecolaminas, e nos casos com baixa produção, observa-se marcação equívoca ou fracamente positiva (Osamura *et al.* 1990; Kimura *et al.* 1992). Uma possível explicação para a hipersecreção de catecolaminas pelos feocromocitomas é o aumento do número de células capazes de produzir e secretar catecolaminas (Waymire *et al.* 1972; Nakada *et al.* 1988; Isobe *et al.* 1998). No presente estudo, a imunorreação para tirosina hidroxilase indica síntese local das catecolaminas, mas não mostra diretamente o produto final, entretanto, pesquisas em humanos relatam que as células neoplásicas do feocromocitoma positivas na IHQ para as enzimas sintetizadoras de catecolaminas, geralmente também secretam catecolaminas (Lloyd *et al.* 1986). Dessa forma, a expressão para tirosina hidroxilase nos feocromocitomas sustenta a hipótese de que estes tumores são bioquimicamente funcionais (Tischler *et al.* 1996). As pesquisas na medicina veterinária relacionadas com a IHQ para tirosina hidroxilase em feocromocitomas são limitadas e realizadas em roedores (Tischler *et al.* 1996; Hill *et al.* 2003). Até o momento, não existem pesquisas relacionadas às expressões imuno-histoquímicas para a tirosina hidroxilase em feocromocitomas de cães. Estudos adicionais sobre a atividade da tirosina hidroxilase e o conteúdo de catecolaminas em feocromocitomas são ainda necessários para testar esta hipótese. Em um estudo molecular, foi demonstrada uma ligação entre um aumento na expressão gênica de tirosina hidroxilase nas adrenais normais e no nível de catecolaminas circulantes em suínos com doença cardíaca (Tomaszek *et al.* 2015).

O uso da tirosina hidroxilase como marcador imuno-histoquímico pode ser útil para o diagnóstico dos neoplasmas que acometem a glândula adrenal, pois é uma técnica confiável e altamente específica para as células catecolaminérgicas (Kimura, 1991; Iwase *et al.* 1994; Tischler *et al.* 1996). Marcadores neuroendócrinos, como a cromogranina A e sinaptofisina são comumente utilizados para o diagnóstico dos feocromocitomas (Rosol a Meuten, 2017). As diferenças na intensidade das marcações para a tirosina hidroxilase e em outros anticorpos neuroendócrinos podem estar relacionados ao grau de diferenciação do tumor, artefatos de fixação ou autólise (Leong a Gilham, 1989; Tischler *et al.* 1996; Corner *et al.* 2017).

O presente estudo descreveu as alterações cardíacas de cães idosos diagnosticados com feocromocitoma e sugere que estas lesões possivelmente estão relacionadas à excreção excessiva de catecolaminas. Os corações apresentaram-se aumentados, com hipertrofia concêntrica do miocárdio predominantemente no ventrículo esquerdo. Histologicamente, necrose comumente relacionada com bandas de contração, infiltrado inflamatório e fibrose foram identificados. A IHQ para a troponina C mostrou ser uma ferramenta útil para a detecção de necrose miocárdica principalmente em lesões incipientes.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e o Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) [PQ 2018 (308226 / 2018-6)] pelo financiamento deste estudo. Agradecemos a todos os membros do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo suporte técnico. Agradecemos a Helena Ribeiro Souza e Ana Paula Girol pela assistência técnica com a imuno-histoquímica para o anticorpo tirosina hidroxilase. Os autores também



agradecem a Eliane Freire Anthonisen pelo auxílio com a técnica histoquímica de PTAH nas amostras do presente estudo.

### **Declaração de interesses conflitantes**

Os autores declararam não haver potenciais conflitos de interesse com relação à pesquisa, autoria ou publicação deste artigo.

### **Financiamento**

Financiamento: Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) [PQ 2018 (308226 / 2018-6)].

### **Referências**

- Acierno MJ, Brown S, Coleman AE, Jepson RE, Papich M *et al.* (2018) ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **32**, 1803–1822.
- Adameova A, Abdellatif Y, Dhalla NS (2009) Role of the excessive amounts of circulating catecholamines and glucocorticoids in stress-induced heart disease. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **87**, 493–514.
- Bandinelli MB, Bassuino DM, Fredo G, Mari C, Driemeier D *et al.* (2014) Identificação e distribuição de lesões cardíacas em bovinos intoxicados por *Amorimia exotropica*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **34**, 837–844.
- Barthez PY, Marks SL, Woo J, Feldman EC, Matteucci M (1997) Pheochromocytoma in dogs: 61 cases (1984-1995). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **11(5)**, 272-278.

- Batiste-Lignier M, Pereira B, Motreff P, Pierrard R, Burnot C *et al.* (2015) Acute and chronic pheochromocytoma-induced cardiomyopathies: different prognoses? A systematic analytical review. *Medicine (Baltimore)*, **94**, e2198.
- Brack M (2000) Adrenal gland tumours in two cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus oedipus*). *Lab Animal*, **34**, 106–110.
- Carretón E, Grandi G, Morchón R, Simón F, Passeri B *et al.* (2012) Myocardial damage in dogs affected by heartworm disease (*Dirofilaria immitis*): immunohistochemical study of cardiac myoglobin and troponin I in naturally infected dogs. *Veterinary Parasitology*, **189**, 390–393.
- Campobasso CP, Dell’Erba AS, Addante A, Zotti F, Marzullo A *et al.* (2008) Sudden cardiac death and myocardial ischemia indicators: a comparative study of four immunohistochemical markers. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, **29**, 154–161
- Colgin LM, Schwahn DJ, Castillo-Alcala F, Kiupel M, Lewis AD (2016) Pheochromocytoma in Old World primates (*Macaca mulatta* and *Chlorocebus aethiops*). *Veterinary Pathology*, **53**, 1259–1263.
- Corner S, Walsh T, Padilla L, MacNeill A, Wallig M *et al.* (2017) Histologic and immunohistochemical characterization of pheochromocytomas in 20 clouded leopards (*Neofelis nebulosa*). *Veterinary Pathology*, **54**, 269–276.
- Costa SZR, Peixoto PV, Brust LAC, d’Avila MS, Santos AM *et al.* (2016). Troponina C na detecção imuno-histoquímica de alterações regressivas precoces no miocárdio de ovinos naturalmente intoxicados por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **36**, 83–89.
- Dias JL, Montali RJ, Strandberg JD, Johnson LK, Wolff MJ (1996) Endocrine neoplasia in New World primates. *Journal of Medical Primatology*, **25**, 34–41.

- Dhalla NS, Adameova A, Kaur M (2010) Role of catecholamine oxidation in sudden cardiac death. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, **24**, 539–546.
- Edmondson EF, Bright JM, Halsey CH, Ehrhart EJ (2015) Pathologic and cardiovascular characterization of pheochromocytoma-associated cardiomyopathy in dogs. *Veterinary Pathology*, **52**, 338–343.
- Fishbein MC, Wang T, Matijasevic M, Hong L, Apple FS (2003) Myocardial tissue troponins T and I. An immunohistochemical study in experimental models of myocardial ischemia. *Cardiovascular Pathology*, **12**, 65–71.
- Gilson SD, Withrow SJ, Wheeler SL, Twedt DC (1994) Pheochromocytoma in 50 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **8**, 228–232.
- Godoy MF, Braile DM, Neto JP (1998) Troponina como marcador de injúria celular miocárdica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, **71**, 629–633.
- Gu YW, Poste J, Kunal M, Schwarcz M, Weiss I (2017) Cardiovascular manifestations of pheochromocytoma. *Cardiology in Review*, **25**, 215–222.
- Hill GD, Pace V, Persohn E, Bresser C, Haseman JK et al. (2003) A comparative immunohistochemical study of spontaneous and chemically induced pheochromocytomas in B6C3F1 mice. *Endocrine Pathology*, **14**, 81–91.
- Hu BJ, Chen YC, Zhu JZ (1996) Immunohistochemical study of fibronectin for postmortem diagnosis of early myocardial infarction. *Forensic Science International*, **78**, 209–217.
- Isobe K, Nakai T, Yukimasa N, Nanmoku T, Takekoshi K et al. (1998) Expression of mRNA coding for four catecholamine synthesizing enzymes in human adrenal pheochromocytomas. *European Journal of Endocrinology*, **138**, 383–387.

- Iwase K, Nagasaka A, Nagatsu I, Kiuchi K, Nagatsu T *et al.* (1994) Tyrosine hydroxylase indicates cell differentiation of catecholamine biosynthesis in neuroendocrine tumors. *Journal of Endocrinological Investigation*, **17**, 235–239.
- Jacob JLB, Silveira LC, Freitas CG, Cêntola CAP, Nicolau JC *et al.* (1994) Pheochromocytoma with echocardiographic features of obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Angiology*, **45**, 985–989.
- Jenkins CP, Cardona DM, Bowers JN, Oliai BR, Allan RW *et al.* (2010) The utility of C4d, C9, and troponin T immunohistochemistry in acute myocardial infarction. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **134**, 256–263.
- Jia JZ, Shen YW, Xue AM, Zhao ZQ (2015) Immunohistochemical analysis of cardiac troponin inhibitor in an experimental model of acute myocardial infarction experimental model and in human tissues. *Pathology - Research and Practice*, **211**, 456–461.
- Jiang JP, Downing SE (1990) Catecholamine cardiomyopathy: review and analysis of pathogenetic mechanisms. *Yale Journal of Biology and Medicine*, **63**, 581–591.
- Juan-Sallés C, Ramos-Vara JA, Garner MM (2009) Pheochromocytoma in six New World primates. *Veterinary Pathology*, **46**, 662–666.
- Kassim TA, Clarke DD, Mai VQ, Clyde PW, Mohamed Shakir KM (2008) Catecholamine-induced cardiomyopathy. *Endocrine Practice*, **14**, 1137–1149.
- Kimura N (1991) Functioning and non-functioning adrenal medullary tumors. *Endocrine Pathology*, **2**, 64–73.
- Kimura N, Miura Y, Nagatsu I, Nagura H (1992) Catecholamine synthesizing enzymes in 70 cases of functioning and non-functioning phaeochromocytoma and extra-adrenal paraganglioma. *Virchows Archiv A Pathological Anatomy Histopathology*, **421**, 25–32.

- Khullar M, Datta BN, Wahi PL, Chakravarti RN (1989) Catecholamine-induced experimental cardiomyopathy - a histopathological, histochemical and ultrastructural study. *Indian Heart Journal*, **41**, 307–313.
- Konosu-Fukaya S, Omata K, Tezuka Y, Ono Y, Aoyama Y *et al.* (2018) Catecholamine-synthesizing enzymes in pheochromocytoma and extraadrenal paraganglioma. *Endocrine Pathology*, **29**, 302–309.
- Lange RA, Hillis LD (2012) Toxins and the hearts. In: *Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 9th Edit., RO Bonnow, DL Mann, DP Zipes, P Libby, E Braunwald, Eds, Elsevier Saunders, Philadelphia, pp. 1628–1637.
- Leong AS, Gilham PN (1989) The effects of progressive formaldehyde fixation on the preservation of tissue antigens. *Pathology*, **21**, 266–268.
- Lloyd RV, Sisson JC, Shapiro B, Verhofstad AA (1986) Immunohistochemical localization of epinephrine, norepinephrine, catecholamine-synthesizing enzymes, and chromogranin in neuroendocrine cells and tumors. *The American Journal of Pathology*, **125**, 45–54.
- Maher ER, McNeil EA (1997) Pheochromocytoma in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **27**, 359–380.
- Mak G, Allen J (2013) Simultaneous pheochromocytoma and third-degree atrioventricular block in 2 dogs. *Journal of Veterinary Emergency & Critical Care*, **23**, 610–614.
- Marcasso RA, Arias MVB, Gianini L, Headley SA, Bracarense APFRL *et al.* (2011) Pheochromocytoma in a dog as a cause of aortic thromboembolism. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, **4**, 145–149.
- Martínez Díaz F, Rodríguez-Morlensín M, Pérez-Cárceles MD, Noguera J, Luna A *et al.* (2005) Biochemical analysis and immunohistochemical determination of cardiac

troponin for the postmortem diagnosis of myocardial damage. *Histology & Histopathology*, **20**, 475–481.

Meijer WG, Copray SC, Hollema H, Kema IP, Zwart N *et al.* (2003) Catecholamine-synthesizing enzymes in carcinoid tumors and pheochromocytomas. *Clinical Chemistry*, **49**, 586–593.

Miller LM, Gal A (2017) Cardiovascular system and lymphatic vessels. In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6th Edit, JF Zachary, Ed, Elsevier, St Louis, pp. 561–618.

Miura M, Kawano H, Yoshida T, Yamagata Y, Nakata T *et al.* (2017). The histological features of a myocardial biopsy specimen in a patient in the acute phase of reversible catecholamine-induced cardiomyopathy due to pheochromocytoma. *Internal medicine*, **56**, 665–671.

Nagatsu T, Mizutani K, Sudo Y, Nagatsu I (1972) Tyrosine hydroxylase in human adrenal glands and human pheochromocytoma. *Clinica Chimica Acta*, **39**, 417–424.

Nakada T, Furuta H, Katayama T (1988) Catecholamine metabolism in pheochromocytoma and normal adrenal medullae. *The Journal of Urology*, **140**, 1348–1351.

O'Brien PJ (2008) Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity. *Toxicology*, **245**, 206–218.

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

Osamura RY, Yasuda O, Kawai K, Hori S, Suemizu H *et al.* (1990).

Immunohistochemical localization of catecholamine-synthesizing enzymes in human pheochromocytomas. *Endocrine Pathology*, **1**, 102–108.

- Pappachan JM, Raskauskiene D, Sriraman R, Edavalath M, Hanna FW (2014) Diagnosis and management of pheochromocytoma: a practical guide to clinicians. *Current Hypertension Reports*, **16**, 1–13.
- Park JH, Kim KS, Sul JY, Shin SK, Kim JH *et al.* (2011) Prevalence and patterns of left ventricular dysfunction in patients with pheochromocytoma. *Journal of Cardiovascular Ultrasound*, **19**, 76–82.
- Prejbisz A, Lenders JW, Eisenhofer G, Januszewicz A (2011) Cardiovascular manifestations of phaeochromocytoma. *Journal of Hypertension*, **29**, 2049–2060.
- Ramos-Vara JA, Miller MA (2014) When tissue antigens and antibodies get along: revisiting the technical aspects of immunohistochemistry--the red, brown, and blue technique. *Veterinary Pathology*, **51**, 42–87.
- Ribeiro-Silva A, Martin C, Rossi MA (2002) Is immunohistochemistry a useful tool in the postmortem recognition of myocardial hypoxia in human tissue with no morphological evidence of necrosis? *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, **23**, 72–77.
- Robinson WF, Robinson NA (2016) Cardiovascular system. In: *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 6th Edit, MG Maxie, Ed, vol. 3, Elsevier, St Louis, pp. 1–101.
- Rona G (1985) Catecholamine cardiotoxicity. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **17**, 291–306.
- Rosol TJ, Meuten DJ (2017) Tumours of the endocrine glands. In: *Tumours in Domestic Animals*, 5th Edit., DJ Meuten, Ed., Wiley-Blackwell, Ames, pp. 782–791.
- Santos AM, Peixoto PV, D'Ávila MS, Peixoto TC, França TN *et al.* (2016) Troponin C in immunohistochemical detection of early regressive myocardial lesions in cattle and

sheep poisoned with sodium monofluoroacetate. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **36**, 67–72.

Schürmeyer TH, Engeroff B, Dralle H, von zur Mühlen A (1997) Cardiological effects of catecholamine-secreting tumours. *European Journal of Clinical Investigation*, **27**, 189–195.

Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR *et al.* (2012) Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation*, **126**, 2020–2035.

Tischler AS, Sheldon W, Gray R (1996) Immunohistochemical and morphological characterization of spontaneously occurring pheochromocytomas in the aging mouse. *Veterinary Pathology*, **33**, 512–520.

Todd GL, Baroldi G, Pieper GM, Clayton FC, Eliot RS (1985) Experimental catecholamine induced myocardial necrosis, I: morphology, quantification and regional distribution of acute contraction band lesions. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **17**, 317–338.

Tomaszek A, Kiczak L, Bania J, Paslawska U, Zacharski M *et al.* (2015) Increased gene expression of catecholamine-synthesizing enzymes in adrenal glands contributes to high circulating catecholamines in pigs with tachycardia-induced cardiomyopathy. *Journal of Physiology and Pharmacology*, **66**, 227–231.

Tümer N, Brown JW, Carballeira A, Fishman LM (1996) Tyrosine hydroxylase gene expression in varying forms of human pheochromocytoma. *Life Sciences*, **59**, 1659–1665.

Sonne L, Oliveira EC, Argenta FF, Monteggia RS, Ferreiro L *et al.* (2017) *Prototheca zopfii* genotype 2 disseminated infection in a dog with neurological signs. *Ciência Rural*, **47**, 1–5.



- Twedt DC, Wheeler SL (1984) Pheochromocytoma in the dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **14**, 767–782.
- Van Vleet JF, Ferrans VJ (1986) Myocardial diseases of animals. *The American Journal of Pathology*, **124**, 98–178.
- Vogel P, Fritz D (2003) Cardiomyopathy associated with angiomatous pheochromocytoma in a rhesus macaque (*Macaca mulatta*). *Veterinary Pathology*, **40**, 468–473.
- Waymire JC, Weiner N, Schneider FH, Goldstein M, Freedman LS (1972) Tyrosine hydroxylase in human adrenal and pheochromocytoma: localization, kinetics, and catecholamine inhibition. *Journal of Clinical Investigation*, **51**, 1798–1804.
- Westphal M, Booke M, Dinh-Xuan AT (2004) Adrenomedullin: a small road from pheochromocytoma to treatment of pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal*, **24**, 518–520.
- White HD (2011) Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? *Journal of the American College of Cardiology*, **57**, 2406–2408.
- Zelinka T, Petrák O, Turková H, Holaj R, Strauch B *et al.* (2012) High incidence of cardiovascular complications in pheochromocytoma. *Hormone and Metabolic Research*, **44**, 379–384.
- Zhang R, Gupta D, Albert SG (2017) Pheochromocytoma as a reversible cause of cardiomyopathy: Analysis and review of the literature. *International Journal of Cardiology*, **15**, 319–323.

### **3.4 Artigo 4**

#### **Alterações congênitas do coração e dos grandes vasos em cães**

Artigo publicado no periódico Pesquisa Veterinária Brasileira, volume 38, número 6.



## Alterações congênitas do coração e dos grandes vasos em cães<sup>1</sup>

Fernando F. Argenta<sup>2</sup>, Saulo P. Pavarini<sup>2</sup>, David Driemeier<sup>2</sup> e Luciana Sonne<sup>2\*</sup>

**ABSTRACT.-** Argenta F.F., Pavarini S.P., Driemeier D. & Sonne L. 2018. [Congenital abnormalities of the heart and large vessels of dogs]. Alterações congênitas do coração e dos grandes vasos em cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 38(6)1184-1189. Setor de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9090, prédio 42505, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. E-mail: lusonne@yahoo.com.br

Congenital alterations of the heart and large vessels (CAHLV) are defined as morphological defects associated with birth and are the most frequent congenital anomalies of domestic animals. The aim of this study was to determine the frequency of CAHLV in dogs in Rio Grande do Sul, with emphasis in the Metropolitan Region of Porto Alegre, from January 2000 to December 2016. Of the 7,903 necropsied dogs, 27 died spontaneously or were submitted to euthanasia due to CAHLV, representing 0.3% of the cases. In 11.1% of the dogs, there were two congenital disorders in the heart or in the great vessels, totaling 30 changes. The age of affected dogs ranged from one day to 12 years, with the median age of four months. In 81.5% it affected dogs with breed, and 18.5%, without breed defined. In 51.8% were males, and 48.2%, females. Subaortic stenosis was the most frequent alteration, followed by atrial septal defect, persistent right aortic arch, patent ductus arteriosus, pulmonic stenosis, ventricular septal defect, and endocardial fibroelastosis. Of the multiple cases, the combinations found were: patent ductus arteriosus associated with atrial septal defect, subaortic stenosis with ventricular septal defect, and atrial and ventricular septal defect.

**INDEX TERMS:** Heart disorders, congenital disorders, subaortic and pulmonic stenosis, atrial and septal defect, persistent right aortic arch, patent ductus arteriosus, dogs.

**RESUMO.-** As alterações congênitas do coração e dos grandes vasos (ACCGV) são definidas como defeitos morfológicos associados ao nascimento e são as anomalias congênitas mais frequentes dos animais domésticos. O objetivo deste trabalho foi determinar a frequência de diagnósticos de ACCGV em cães no Rio Grande do Sul, com ênfase na Região Metropolitana de Porto Alegre, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2016. Do total de 7.903 necropsias de cães, 27 morreram espontaneamente ou foram submetidos à eutanásia devido às ACCGV, representando 0,3% dos casos. Em 11,1% dos cães apresentaram dois distúrbios congênitos no coração ou nos grandes vasos, totalizando 30 alterações. A idade variou de um dia a 12 anos, com a idade mediana de quatro meses. Em 81,5% acometeu cães com raça, e 18,5% sem raça

definida. Em relação ao sexo, 51,8% dos cães eram machos e 48,2%, fêmeas. Estenose subaórtica foi a alteração mais frequente, seguido por defeito do septo atrial, persistência do arco aórtico direito, persistência do ducto arterioso, estenose pulmonar e defeito do septo interventricular, e fibroelastose endocárdica. Dos casos múltiplos, as combinações encontradas foram: persistência do ducto arterioso associado com defeito do septo atrial, estenose subaórtica com defeito do septo interventricular, e defeito do septo atrial e ventricular.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Coração, distúrbios cardíacos congênitos, estenose subaórtica e pulmonar, defeito de septo, persistência do arco aórtico, persistência ducto arterioso, caninos.

### INTRODUÇÃO

As alterações congênitas do coração e dos grandes vasos (ACCGV) são definidas como defeitos morfológicos associados ao nascimento (MacDonald 2006) e são as anomalias congênitas mais frequentes dos animais domésticos (Ocarino et al. 2016). Diversos processos estão envolvidos na patogênese dessas

<sup>1</sup> Recebido em 26 de maio de 2017.

Aceito para publicação em 14 de junho de 2017.

<sup>2</sup> Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, prédio 42505, Porto Alegre, RS 91540-000, Brasil. \*Autor para correspondência: lusonne@yahoo.com.br

alterações, como etiologias tóxicas, físicas ou nutricionais (Miller et al. 2013, Ocarino et al. 2016), porém em cães, são frequentemente hereditárias (Robinson & Robinson 2016). A gravidade dos sinais clínicos depende do grau da lesão, muitas vezes podem levar ao surgimento rápido de sinais clínicos de insuficiência cardíaca ou podem possibilitar que o cão chegue até a idade adulta (Ocarino et al. 2016). As ACCGV podem ser derivadas de falhas no fechamento das comunicações cardiovasculares fetais, como a persistência do ducto arterioso e defeitos nos septos atrial e interventricular; falhas no desenvolvimento valvular normal, como a estenose pulmonar e subaórtica; mau posicionamento de grandes vasos, como a persistência do arco aórtico direito, e outras anomalias, como a fibroelastose do endocárdio (Miller et al. 2013). O reconhecimento precoce das ACCGV é de grande importância, pois fornece um prognóstico favorável, visto que algumas anomalias podem ser corrigidas cirurgicamente (Darke 1989, Oliveira et al. 2011).

Este trabalho tem como objetivo determinar a frequência das ACCGV em cães no Rio Grande do Sul, com ênfase na Região Metropolitana de Porto Alegre, no período de 16 anos, abordando seus aspectos epidemiológicos e patológicos.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Foram revisados os laudos de necropsias de caninos arquivados do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2016, e selecionados para o estudo os casos diagnosticados com alterações congênicas do coração e dos grandes vasos. Dados referentes à identificação do cão, como raça, sexo e idade, além do histórico clínico, lesões macroscópicas e microscópicas, e os diagnósticos foram analisados e compilados.

#### RESULTADOS

Foram analisados laudos de necropsia de 7.903 cães, destes, 685 morreram ou foram submetidos à eutanásia devido a doenças cardiovasculares, dentre estas, as alterações congênicas foram diagnosticadas em 3,9% (27/685) dos casos, e em relação ao número total de necropsias a frequência foi de 0,3% (27/7903). Dos 27 cães, 11,1% (3/27) apresentaram combinação de dois distúrbios congênicos no coração ou nos grandes vasos, totalizando 30 alterações. Do total dos casos analisados, 96,5% (26/27) eram oriundos da Região Metropolitana de Porto Alegre, e nos 3,7% (1/27) restantes, Região Nordeste Rio-grandense.

De uma maneira geral, a idade variou de um dia a 12 anos, com a mediana de quatro meses (idade média de 22,2 meses). Em relação ao sexo, 51,8% (14/27) eram machos e 48,2% (13/27) fêmeas. Em 81,5% (22/27) dos casos acometeram cães com raça, e os 18,5% (5/27) restantes, sem raça definida (SRD). Dentre as raças, Boxer, Buldogue francês, Dachshund, Fila brasileiro e Pinscher foram as mais acometidas, representando 9,1% (2/22) dos casos. O diagnóstico, número de casos e a porcentagem das ACCGV em cães estão detalhados no Quadro 1.

#### Estenose subaórtica

Do total de 30 ACCGV, 11 cães foram diagnosticados com estenose subaórtica, representando 36,7% dos casos. Quanto ao sexo, 63,6% (7/11) eram fêmeas e 36,4% (4/11), machos. A idade variou de dois meses a 12 anos, com a idade

mediana de quatro meses (média de 37,2 meses). Em 81,8% (9/11) dos casos afetou cães com raça, e os 18,2% (2/11) restantes, SRD. As raças acometidas foram Dachshund (18,2% (2/11), e Dálmata, Yorkshire terrier, Pinscher, Boxer, Lhasa Apso, Rotweiller e Sharpei (9,1% (1/11), cada). Dos casos combinados, em um cão observou persistência do forme oval concomitante com a estenose subaórtica.

Em 54,5% (6/11) dos casos diagnosticados com estenose subaórtica foi relatada morte súbita. Em relação aos sinais clínicos descritos pelos tutores/veterinários clínicos, 45,5% (5/11) dos cães apresentaram dificuldade respiratória, e cianose e secreção nasal, em 9,1% (1/11), cada.

À necropsia, todos os casos apresentaram uma camada espessa de tecido conjuntivo fibroso no ventrículo esquerdo abaixo das válvulas semilunares aórticas (Fig.1A), com conseqüente hipertrofia do ventrículo esquerdo e discreta dilatação da aorta. Em relação às lesões extracardíacas, todos os cães apresentaram graus variados de edema e congestão pulmonares, com inúmeros macrófagos alveolares contendo pigmento acastanhado (hemossiderina) em seus interiores (células da falha cardíaca) identificados à microscopia. Congestão passiva crônica do fígado e ascite foram relatadas em 63,6% (7/11) e 18,2% (2/11), respectivamente.

#### Defeito do septo atrial

Sete cães foram diagnosticados com defeito do septo atrial, representando 23,3% do total das ACCGV. Destes, 71,4% (5/7) eram machos e 28,6% (2/7), fêmeas. A idade variou de um dia a três anos, com a idade mediana de cinco meses (média de 8,8 meses). Todos os cães eram de raça definida, sendo estas: Buldogue inglês, Buldogue francês, Spitz alemão, Fila brasileiro, Bichon Frisé, Pitbull e Boxer, representando 14,3% (1/7) cada. Em 28,6% (2/7) dos casos identificaram alterações congênicas combinadas, como persistência do ducto arterioso (14,3%, 1/7) e defeito interventricular (14,3%, 1/7) concomitantes com o defeito do septo atrial.

Morte súbita foi relatada em 42,8% (3/7) dos casos e os principais sinais clínicos relatados foram dificuldade respiratória, descrita em 42,3% (3/7) dos casos, seguido por secreção nasal e cianose, com 28,6% (2/7) e 14,3% (1/7), respectivamente.

À necropsia identificou-se nos sete casos, um orifício de diâmetro variado comunicando os dois átrios (Fig.1B) com conseqüente dilatação do ventrículo direito. Em relação às

**Quadro 1. Alterações congênicas do coração e dos grandes vasos, número de casos e porcentagem de cães diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária, UFRGS**

Diagnóstico	Número de casos	Porcentagem (%)
Estenose subaórtica	11	36,7
Defeito do septo atrial	7	23,3
Persistência do arco aórtico direito	4	13,3
Persistência do ducto arterioso	3	10,0
Estenose pulmonar	2	6,7
Defeito do septo interventricular	2	6,7
Fibroelastose endocárdica	1	3,3
TOTAL	30	100

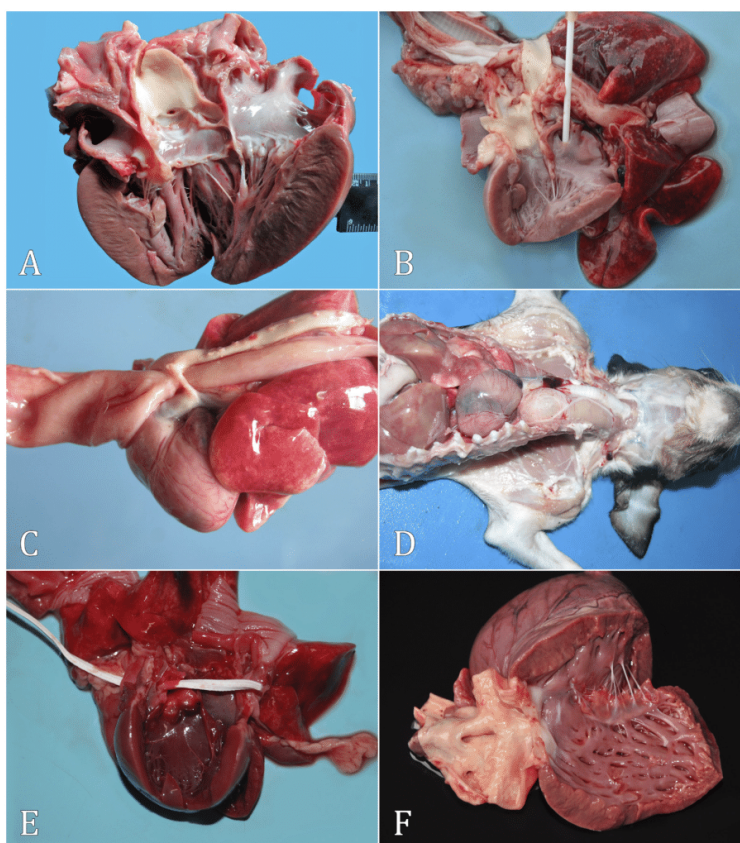


Fig.1. Aspectos macroscópicos das alterações congênicas do coração e de grandes vasos em cães. (A) Estenose subaórtica com camada de tecido conjuntivo fibroso esbranquiçado no ventrículo esquerdo abaixo das válvulas semilunares aórticas. (B) Defeito do septo atrial, caracterizado por orifício comunicando os dois átrios. (C) Persistência do arco aórtico direito, caracterizada pela formação de um ligamento fibroso sobre o esôfago e traqueia, causando a dilatação da porção cranial esofágica. (D) Megaesôfago no cão com persistência do arco aórtico direito da figura anterior. (E) Persistência do ducto arterioso, comunicação à aorta e à artéria pulmonar (F) Estenose pulmonar com camada espessa de tecido conjuntivo fibroso abaixo das válvulas semilunares pulmonares, com dilatação da artéria pulmonar.

lesões extracardíacas, 85,7% (6/7) dos casos apresentaram graus variados de edema e congestão pulmonares, com inúmeras células da falha cardíaca no interior de alvéolos, identificadas à microscopia. Congestão passiva crônica do fígado, ascite e hidrotórax foram identificadas em 42,3% (3/7), 14,3% (1/7) e 14,3% (1/7), respectivamente.

#### Persistência do arco aórtico direito

Quatro cães foram diagnosticados com persistência do arco aórtico direito, representando 13,3%. Essa anomalia afetou 75% (3/4) fêmeas, e 25% (1/7), machos. A idade dos cães acometidos variou de dois meses a seis meses, com a idade mediana de três meses (média de 3,5 meses). Quanto à raça, 50% (2/4) eram SRD, e os outros 50%, com raça, sendo essas, Buldogue francês e Pinscher, representando 25% (1/4) cada.

Os sinais clínicos relatados nestes casos foram caracterizados por regurgitação, identificada em 100% (4/4) dos cães

acometidos, seguido por cianose e dificuldade respiratória, descrito em 25% (1/4), cada.

À necropsia, nos quatro casos observou-se a persistência do arco aórtico direito, caracterizada pela formação de um ligamento fibroso sobre o esôfago e traqueia (Fig.1C), causando a dilatação da porção cranial esofágica (megaesôfago) (Fig.1D). Em 50% (2/4) dos cães apresentaram áreas multifocais de consolidação pulmonar, que à microscopia, caracterizaram-se por broncopneumonia por aspiração.

#### Persistência do ducto arterioso

Três cães apresentaram persistência do ducto arterioso (10%), destes, 66,7% (2/3) eram fêmeas e 33,3% (1/3) machos. A idade variou de 10 dias a quatro meses, com a mediana de três meses (média de 2,4 meses). Todos os cães apresentavam raça definida, sendo estas: Buldogue francês, Maltês e Shih Tzu, representando 33,3% (1/3) cada. Em 33,3% (1/3) dos

casos observou persistência do ducto arterioso concomitante com defeito do septo atrial.

Morte súbita foi relatada em 33,3% (1/3), e dificuldade respiratória foi o sinal clínico identificado em 66,7% (2/3).

Observou-se na necropsia dos três casos, comunicação entre a aorta e a artéria pulmonar sem a formação do *ligamentum arteriosum* (Fig.1E), com dilatação destas e consequente hipertrofia das câmaras cardíacas esquerda e direita. Edema e congestão pulmonares, além de células da falha cardíaca, foram relatados em todos os casos, e congestão passiva crônica do fígado em 33,3% (1/3).

#### Estenose pulmonar

Dois cães foram diagnosticados com estenose pulmonar (6,7%), sendo estes, machos, de raça definida (Poodle e Fila brasileiro). Em um caso a idade foi de seis meses, e no outro, oito anos. Não foram relatadas informações referentes aos sinais clínicos.

Macroscopicamente, os dois cães apresentaram estreitamento do lúmen da artéria pulmonar, devido a camada espessa de tecido conjuntivo fibroso abaixo das válvulas semilunares pulmonares, com consequente hipertrofia concêntrica do ventrículo direito e dilatação da artéria pulmonar (Fig.1F). Em um caso se observou acentuado edema e congestão pulmonares, com células da falha cardíaca, ascite e congestão passiva crônica do fígado.

#### Defeito do septo interventricular

Dois cães foram diagnosticados com defeito do septo interventricular (6,7%). Um caso acometeu fêmea SRD de dois meses de idade, e o outro, macho da raça Bichon Frisé com três meses de idade. Os dois cães apresentavam combinações das ACCGV, sendo estas: estenose subaórtica, e defeito do septo atrial concomitantes com o defeito do septo interventricular.

Morte súbita foi relatada na fêmea. Os sinais clínicos foram descritos no cão macho e foram caracterizados por dificuldade respiratória, secreção nasal e cianose.

Na necropsia observou um orifício de tamanho variado no septo interventricular, envolvendo a porção membranosa, com hipertrofia excêntrica do ventrículo esquerdo e hipertrofia concêntrica do ventrículo direito. Os dois cães apresentaram graus variados de edema e congestão pulmonares, com células da falha cardíaca identificadas à microscopia.

#### Fibroelastose endocárdica

Um cão foi diagnosticado com fibroelastose endocárdica, representando 3,3% do total das ACCGV. O cão era macho, SRD e de dois meses de idade. Dificuldade respiratória, secreção nasal e cianose foram os sinais clínicos relatados.

Macroscopicamente, o coração do canino afetado apresentou múltiplas e moderadas áreas esbranquiçadas no endocárdio, com hipertrofia secundária dos ventrículos e dilatação do átrio direito. Ascite, hidrotórax, edema e congestão pulmonares e congestão passiva crônica do fígado foram as lesões extracardíacas identificadas.

### DISCUSSÃO

No presente trabalho, a frequência das ACCGV diagnosticadas através da necropsia foi de 0,3% do total de necropsias de cães, e em relação às doenças cardiovasculares, representou 3,9% dos casos. Dado semelhante é descrito na literatura,

onde a frequência foi de aproximadamente 0,5%, porém, os casos foram analisados através do exame *post mortem*, e também pela avaliação clínica cardíaca (Patterson 1968, Mulvihill & Priester 1973). Em diversos estudos retrospectivos realizados através da análise clínica de cães com doenças cardiovasculares, a frequência de ACCGV variou de 17% a 23,5% (Baumgartner & Glaus 2003, Oliveira et al. 2011). Na pesquisa de Oliveira et al. (2011), apenas 4,4% dos cães com ACCGV foram diagnosticados através da necropsia.

A combinação entre duas ACCGV foi identificada em 11,1% dos casos. Em pesquisas semelhantes, a frequência de casos combinados variou de 8,2% a 15% (Baumgartner & Glaus 2003, Oliveira et al. 2011). Os casos de defeito do septo interventricular do presente estudo estavam associados com outras ACCGV. Robinson & Robinson (2016) descrevem que esse defeito, embora ocorra mais comumente como uma alteração isolada, em muitas ocasiões observa-se combinação, como ocorre na tetralogia de Fallot ou na persistência do ducto arterioso.

A idade dos caninos com ACCGV variou de um dia a 12 anos, com a mediana de quatro meses (idade média de 22,2 meses). Em pesquisas semelhantes, a idade média variou de 11 a 42 meses (Tidholm 1997, Oliveira et al. 2011). O diagnóstico de ACCGV em cães ocorre frequentemente antes do primeiro ano de vida (Mulvihill & Priester 1973, Buchanan 1999), porém, cães com ACCGV podem atingir a fase adulta, pois a gravidade dos sinais clínicos está relacionada com o grau da lesão (Ocarino et al. 2016).

Em relação à predisposição sexual, pesquisadores descreveram que a estenose pulmonar é mais comum em machos (Tidholm 1997, Oliveira et al. 2011) e a persistência do ducto arterioso, em fêmeas (Tidholm 1997, Oliveira et al. 2011, Miller et al. 2013), dados que corroboram com o presente trabalho.

Cães com raça foram os mais acometidos, semelhante ao descrito por Oliveira et al. (2011), e isto provavelmente ocorre por questões de consanguinidade das raças. No presente estudo, Boxer, Buldogue francês, Dachshund, Fila brasileiro e Pinscher foram as mais acometidas. Pesquisadores sugerem que a estenose subaórtica é mais comum em raças de grande porte, como Pastor alemão, Golden retriever e Rottweiler (MacDonald 2006, Miller et al. 2013, Robinson & Robinson 2016). Boxer é uma das principais raças predispostas ao desenvolvimento de ACCGV (Chetboul et al. 2006, Bussadori et al. 2009, Oliveira et al. 2011), e Pinscher e Buldogue francês foram frequentemente diagnosticados com ACCGV em um estudo semelhante (Oliveira et al. 2011).

Estenose subaórtica foi a alteração mais frequente, este dado está de acordo com os descritos na literatura (Tidholm 1997, Baumgartner & Glaus 2003, Egenvall et al. 2006, MacDonald 2006). As falhas no desenvolvimento valvular, como a estenose subaórtica e estenose pulmonar, juntamente com a persistência do ducto arterioso, são as ACCGV mais comuns em cães, conforme relatado por diversos pesquisadores (Patterson 1968, Buchanan 1999, Oliveira et al. 2011, Miller et al. 2013, Robinson & Robinson 2016). No presente estudo, essas alterações representaram mais de 50% dos diagnósticos.

Dificuldade respiratória, secreção nasal e cianose foram os principais sinais clínicos descritos. Regurgitação foi relatada nos cães com persistência do arco aórtico direito no presente estudo. A maioria dos casos de ACCGV é assintomática, porém,

sinais relacionados com insuficiência cardiopulmonar, como dispnéia (Tidholm 1997, Miller et al. 2013), síncope, intolerância ao exercício, cianose, taquipnéia e tosse podem ser observados (MacDonald 2006). A gravidade dos sinais clínicos é variável e depende do grau da lesão (Ocarino et al. 2016). Em alguns casos, o defeito pode ser incompatível com a vida (Miller et al. 2013). Diversos pesquisadores relatam que morte súbita pode ocorrer nas ACCGV, principalmente, na estenose subaórtica e pulmonar (Kienle et al. 1994, MacDonald 2006, Robinson & Robinson 2016). No presente estudo, morte súbita foi relatada pelos tutores/veterinário clínico em 11 cães, representando 40,7%.

Macroscopicamente, todas as ACCGV encontradas no presente estudo corroboram com os achados descritos na literatura (Miller et al. 2013, Ocarino et al. 2016, Robinson & Robinson 2016). Hipertrofia do miocárdio e dilatação vascular sobrejacente à estenose foram achados frequentes. Para Robinson & Robinson (2016), a maioria dos casos de ACCGV reflete-se no aumento grosseiro do coração e na alteração do tamanho ou disposição dos grandes vasos. A hipertrofia concêntrica nos cães com estenose subaórtica e pulmonar do presente estudo está relacionada com a sobrecarga de pressão decorrente da obstrução do fluxo sanguíneo (Ocarino et al. 2016), e nos casos de defeitos de septos, os ventrículos sofreram hipertrofia excêntrica devido à sobrecarga de volume, e concêntrica por causa da sobrecarga de pressão (Robinson & Robinson 2016). No presente estudo, todos os cães com defeito no septo interventricular apresentavam um orifício na porção superior (membranosa), que é o local mais frequente deste achado (Miller et al. 2013). Nos casos de persistência do ducto arterioso, a hipertrofia do ventrículo esquerdo e direito ocorreu em razão do desvio de sangue do lado esquerdo para o direito, com sobrecarga do volume sanguíneo e aumento de pressão (Ocarino et al. 2016). O megaesôfago identificado em todos os casos de persistência do arco aórtico direito é causado pela compressão do ligamento sobre o esôfago, comprimindo-o sobre a traqueia, no qual ocasiona dilatação esofágica e regurgitação (Ocarino et al. 2016). Na fibroelastose endocárdica, há múltiplas áreas esbranquiçadas no endocárdio, que microscopicamente, consistem em deposição de tecido conjuntivo fibroso (Larsson et al. 1997), assim como relatado no caso do presente estudo.

Edema e congestão pulmonares, ascite, e congestão passiva crônica do fígado foram lesões extracardíacas frequentes no presente estudo, e são comuns em casos de insuficiência cardíaca em cães (Ocarino et al. 2016, Robinson & Robinson 2016). A formação de edema nestes casos ocorreu principalmente pelo aumento da pressão hidrostática, decorrente da estase do fluxo sanguíneo (Ocarino et al. 2016). Células da falha cardíaca nos alvéolos pulmonares, identificadas à microscopia, foi um achado comum nos cães com ACCGV. Estas células são originadas devido ao aumento na eritrofagocitose, decorrente da estase do fluxo sanguíneo no leito capilar pulmonar nos casos de insuficiência cardíaca. As lesões hepáticas identificadas também estão relacionadas com a hipertensão portal consequente da insuficiência cardíaca (Miller et al. 2013). Dois cães com persistência do arco aórtico direito apresentaram concomitantemente, broncopneumonia por aspiração, e isso pode estar relacionado com a dificuldade de deglutição nestes animais, decorrente da dilatação esofágica presente nessa alteração (Miller et al. 2013).

## CONCLUSÕES

As alterações congênitas do coração e dos grandes vasos (ACCGV) são doenças importantes em cães de raças definidas. A idade é bastante variável, com a idade mediana de quatro meses. Clinicamente caracterizam-se por sinais de insuficiência cardíaca, como dificuldade respiratória, secreção nasal e cianose, e morte súbita.

Estenose subaórtica foi o defeito mais comumente encontrado, seguido por defeito do septo atrial e persistência do arco aórtico direito. Múltiplos defeitos podem ocorrer no mesmo cão.

As combinações encontradas frequentemente são: persistência do ducto arterioso associada com o defeito do septo atrial, estenose subaórtica com defeito do septo interventricular, e defeito atrial e ventricular.

Edema e congestão pulmonares, ascite, e congestão passiva crônica do fígado são lesões extracardíacas frequentes nos casos de ACCGV.

O reconhecimento da frequência destas anomalias é fundamental para o diagnóstico diferencial e para determinar um tratamento adequado.

## REFERÊNCIAS

- Baumgartner C. & Glaus T.M. 2003. Angeborene herzerkrankungen beim hund: eine retrospektive analyse. Schweiz. Arch. Tierheilkunde 145(11):527-536. <http://dx.doi.org/10.1024/0036-7281.145.11.527>.
- Buchanan J.W. 1999. Prevalence of cardiovascular disorders, p.458-463. In: Fox P.R., Sisson D.D. & Moise N.S. (Eds), Textbook of Canine and Feline Cardiology. 2nd ed. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Bussadori C., Pradelli D., Borgarelli M., Chiavegato D., D'Agnolo G., Menegazzo L., Migliorini F., Santilli R., Zani A. & Quintavalla C. 2009. Congenital heart disease in boxer dogs: results of 6 years of breed screening. Vet. J. 181(2):187-192. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.008>. PMID:18400530.
- Chetboul V., Trollé J.M., Nicolle A., Carlos Sampedrano C., Gouni V., Laforge H., Benalloul T., Tissier R. & Pouchelon J.L. 2006. Congenital heart diseases in the Boxer dog: a retrospective study of 105 cases (1998-2005). J. Vet. Med. Physiol. Pathol. Clin. Med. 53(7):346-351. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0442.2006.00865.x>. PMID:16922831.
- Darke P.G.G. 1989. Congenital heart disease in dogs and cats. J. Small Anim. Pract. 30(1):599-607. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.1989.tb01485.x>.
- Egenvall A., Bonnett B.N. & Häggström J. 2006. Heart disease as a cause of death in insured Swedish dogs younger than 10 years of age. J. Vet. Intern. Med. 20(4):894-903. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb01803.x>. PMID:16955814.
- Kienle R.D., Thomas W.P. & Pion P.D. 1994. The natural history of canine congenital subaortic stenosis. J. Vet. Intern. Med. 8(6):423-431. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.1994.tb03262.x>. PMID:7884729.
- Larsson M.H., Baccaro M.R., Pereira L. & Oliveira S.M. 1997. Endocardial fibroelastosis in a dog. J. Small Anim. Pract. 38(4):168-170. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.1997.tb03456.x>. PMID:9127286.
- MacDonald K.A. 2006. Congenital heart diseases of puppies and kittens. Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract. 36(3):503-531, vi. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2005.12.006>. PMID:16564411.
- Miller M., Van Vleet J.F. & Gal A. 2013. Sistema cardiovascular, p.559-614. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (Eds), Bases da Patologia em Veterinária. 5ª ed. Elsevier, Rio de Janeiro.

- Mulvihill J.J. & Priester W.A. 1973. Congenital heart disease in dogs: epidemiologic similarities to man. *Teratology* 7(1):73-78. <http://dx.doi.org/10.1002/tera.1420070111>. PMID:4693746.
- Ocarino N.M., Paixão T.A., Carvalho E.C.Q. & Gimeno E.J. 2016. Sistema Cardiovascular, Cap2. p.49-85. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds), *Patologia Veterinária*. 2ª ed. Roca, Rio de Janeiro.
- Oliveira P., Domenech O., Silva J., Vannini S., Bussadori R. & Bussadori C. 2011. Retrospective review of congenital heart disease in 976 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 25(3):477-483. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0711.x>. PMID:21418326.
- Patterson D.F. 1968. Epidemiologic and genetic studies of congenital heart disease in the dog. *Circ. Res.* 23(2):171-202. <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.23.2.171>. PMID:5662573.
- Robinson W.F. & Robinson N.A. 2016. Cardiovascular system, p.14-24. In: Maxie M.G. (Ed.), *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Vol.3. 6th ed. Elsevier, St Louis.
- Tidholm A. 1997. Retrospective study of congenital heart defects in 151 dogs. *J. Small Anim. Pract.* 38(3):94-98. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.1997.tb03326.x>. PMID:9097239.



#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As cardiomiopatias primárias foram causas importantes de morte em gatos no Sul do Brasil. As cardiomiopatias afetaram mais comumente gatos machos adultos sem raça definida, com mediana de idade de sete anos. A cardiomiopatia hipertrófica foi a classificação morfológica mais frequente diagnosticada.

Cardiomegalia e hipertrofia do miocárdio esquerdo foram os principais achados macroscópicos no coração de gatos com diagnóstico de neoplasmas nas glândulas tireoide e adrenal. O uso dos marcadores imuno-histoquímicos BNP, cTnC e desmina foi uma ferramenta útil para a detecção de lesões cardíacas.

Em cães, lesões cardiovasculares secundárias podem estar relacionadas ao feocromocitoma. A IHQ para a troponina C mostrou ser uma ferramenta útil para a detecção de necrose miocárdica principalmente em lesões incipientes.

As alterações congênitas do coração e dos grandes vasos foram doenças importantes em cães de raças definidas e com idade mediana de quatro meses. Estenose subaórtica foi o defeito mais comumente encontrado, seguido por defeito do septo atrial e persistência do arco aórtico direito.

## REFERÊNCIAS

ADAMEOVA, A.; ABDELLATIF, Y.; DHALLA, N.S. Role of the excessive amounts of circulating catecholamines and glucocorticoids in stress-induced heart disease. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v.87, p.493-514, 2009.

ASANO, K. *et al.* Plasma atrial and brain natriuretic peptide levels in dogs with congestive heart failure. **J. Vet. Med. Sci.**, v.61, p.523-529, 1999.

AUPPERLE, H. *et al.* Primary and secondary heart tumours in dogs and cats. **J. Comp. Pathol.**, v.136, n.1, p.18-26, 2007.

AUPPERLE, H. *et al.* An immunohistochemical study of the role of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in chronic mitral valvular disease (valvular endocardiosis) in dogs. **Vet. J.**, v.180, n.1, p.88-94, 2009.

BASSO, C. *et al.* Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy causing sudden cardiac death in boxer dogs: a new animal model of human disease. **Circulation**, v.109, n.9, p.1180-1185, 2004.

BIONDO, A.W. *et al.* Immunohistochemistry of atrial and brain natriuretic peptides in control cats and cats with hypertrophic cardiomyopathy. **Vet. Pathol.**, v.40, p.501-506, 2003.

BLAKE, R. The use of cardiac biomarkers in dogs and cats. **Companion Animal**, v.23, p.569-577, 2018.

BONNETT, B.N. *et al.* Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: I. Breed-, gender-, age- and cause-specific rates. **Acta Vet. Scand.**, v.46, n.3, p.105-120, 2005.

BORGARELLI, M.; HAGGSTROM, J. Canine degenerative myxomatous mitral valve disease: natural history, clinical presentation and therapy. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.40, n.4, p.651-663, 2010.

BORGARELLI, M. *et al.* Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. **J. Vet. Intern. Med.**, v.22, n.1, p.120-128, 2008.

BORGARELLI, M. *et al.* Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part II: pathophysiology and therapy. **Vet. J.**, v.162, n.3, p.182-195, 2001.

BORGEAT, K.; CONNOLLY, D.J.; FUENTES, L. Cardiac biomarkers in cats. **J. Vet. Cardiol.**, v.17, Suppl 1, p.74-86, 2015.

BUCHANAN, J.W. Chronic valvular disease (endocardiosis) in dogs. **Adv. Vet. Sci. Comp. Med.**, v.21, p.75-106, 1977.

CONNOLLY, D.J. *et al.* Cardiac troponin I in cats with hypertrophic cardiomyopathy. **J. Feline Med. Surg.**, v.5, p.209-216, 2003.

CONNOLLY, D.J. *et al.* Serum troponin I levels in hyperthyroid cats before and after treatment with radioactive iodine. **J. Feline Med. Surg.**, v.7, p.289-300, 2005.

COOPER, B.J.; VALENTINE, B.A. Tumors of Muscle. In: MEUTEN, D.J. (Ed.). **Tumors in Domestic Animals**. 5 ed. Iowa: John Wiley & Sons Inc. 989p. 2017.

D'AMATI, G. *et al.* Altered distribution of desmin filaments in hypertrophic cardiomyopathy: an immunohistochemical study. **Mod. Pathol.**, v.5, n.2, p.165-168, 1992.

DARKE, P.G.G. Congenital heart disease in dogs and cats. **J. Small Anim. Pract.**, v.30, n.1, p.599-607, 1989.

DUNN, J.K.; ELLIOTT, J.; HERRTAGE, M.E. Doenças do Sistema Cardiovascular. In: DUNN, J.K (Ed.). **Tratado de Medicina de Pequenos animais**. São Paulo: Roca. p.289-293, 2001.

EDMONDSON, E.F. *et al.* Pathologic and cardiovascular characterization of pheochromocytoma-associated cardiomyopathy in dogs. **Vet. Pathol.**, v.52, n.2, p.338-343, 2015.

ELLIOTT, P. *et al.* Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the european society of cardiology working group on myocardial and pericardial diseases. **Eur. Heart J.**, v.29, p.270-276, 2008.

FAHY, G.J. *et al.* Plasma atrial natriuretic peptide is elevated in patients with hypertrophic cardiomyopathy. **Int. J. Cardiol.**, v.55, p.149-155, 1996.

- FERASIN, L. *et al.* Feline idiopathic cardiomyopathy: a retrospective study of 106 cases (1994-2001). **J. Feline Med. Surg.**, v.5, p.151-159, 2003.
- FOX, P.R. Endomyocardial fibrosis and restrictive cardiomyopathy: pathologic and clinical features. **J. Vet. Cardiol.**, v.6, p.25-31, 2004.
- FOX, P.R. *et al.* Spontaneously occurring arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in the domestic cat: A new animal model similar to the human disease. **Circulation**, v.102, n.15, p.1863-1870, 2000.
- GODOY, M.F. *et al.* Troponina como marcador de injúria celular miocárdica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.71, n.4, p.629-633, 1998.
- HAGGSTROM, J.; HOGLUND, K.; BORGARELLI, M. An update on treatment and prognostic indicators in canine myxomatous mitral valve disease. **J. Small. Anim. Pract.**, v.50, suppl. 1, p.25-33, 2009.
- HALL, C. NT-ProBNP: the mechanism behind the marker. **J. Cardiac Failure**, v.11(5 Suppl), p.S81-83, 2005.
- HAN, R.I. *et al.* Morphological changes to endothelial and interstitial cells and to the extracellular matrix in canine myxomatous mitral valve disease (endocardiosis). **Vet. J.**, v.197, n.2, p.388-394, 2013.
- HANAI, K. *et al.* Evaluation of cardiac function by echocardiography in dogs treated with doxorubicin. **J. Toxicol. Sci.**, v.21, p.1-10, 1996.
- HAYMAN, R.; UNE, Y.; NOMURA, Y. Desmin as a possible immunohistochemical marker for feline hypertrophic cardiomyopathy. **J. Vet. Med. Sci.**, v.62, n.3, p.343-346, 2000.
- HSU, A.; KITTLESON, M.D.; PALING, A. Investigation into the use of plasma NT-proBNP concentration to screen for feline hypertrophic cardiomyopathy. **J. Vet. Cardiol.**, v.11, p.63-70, 2009.
- JANUS, I. *et al.* The immunohistochemical evaluation of selected markers in the left atrium of dogs with end-stage dilated cardiomyopathy and myxomatous mitral valve disease - a preliminary study. **Irish Vet. J.**, v. 69, p.1-9, 2016.

JENKINS, C.P. *et al.* The utility of C4d, C9, and troponin T immunohistochemistry in acute myocardial infarction. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v.134, p.256-263, 2010.

KASSIM, T.A. *et al.* Catecholamine-induced cardiomyopathy. **Endocr. Pract.**, v.14, n.9, p. 1137-1149, 2008.

KIENLE, R.D. Feline Cardiomyopathy. In: TILLEY, L.P. *et al.* (Ed.). **Manual of Canine and Feline Cardiology**. 4.ed. St Louis: W.B. Saunders, p.151-175, 2008.

KIMURA, Y. *et al.* Pathological features and pathogenesis of the endomyocardial form of restrictive cardiomyopathy in cats. **J. Comp. Path.**, v.155, p.190-198, 2016.

KISSEBERTH, W.C. Neoplasia of the heart. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. (Ed.). **Small Animal Clinical Oncology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company. p.661-667, 2001.

KOGURE, K. Pathology of chronic mitral valvular disease in the dog. **Nihon. Juigaku. Zasshi.**, v.42, n.3, p.323-35, 1980.

LANGE, R.A.; HILLIS, L.D. Toxins and the hearts. In: BONNOW, R.O. *et al.* (Ed.). **Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine**. 9.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. p.1628-1637, 2012.

LIU, S.K.; PETERSON, M.E.; FOX, P.R. Hypertrophic cardiomyopathy and hyperthyroidism in the cat. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.185, n.1, p.52-57, 1984.

LOMBARD, C.W.; GOLDSCHMIDT, M.H. Primary fibroma in the right atrium of a dog. **J. Small Anim. Pract.**, v.21, p.439-448, 1980.

MACDONALD, K.A. Congenital heart diseases of puppies and kittens. **Vet. Clin. Small Anim.**, v.36, n.3, p.503-531, 2006.

MACDONALD, K.A.; KITTLESON, M.D.; KASS, P.H. Effect of spironolactone on diastolic function and left ventricular mass in Main Coon cats with familial hypertrophic cardiomyopathy. **J. Vet. Intern. Med.**, v.22, n.3, p.335-341, 2008.

MACHIDA, N. *et al.* Primary malignant mixed mesenchymal tumour of the heart in a dog. **J. Comp. Pathol.**, v.128, p.71-74, 2003.

- MADARAME, H. *et al.* Primary cardiac fibrosarcoma in a dog. **J. Vet. Med. Sci.**, v.66, p.979-982, 2004.
- MAK, G.; ALLEN, J. Simultaneous pheochromocytoma and third-degree atrioventricular block in 2 dogs. **J. Vet. Emerg. Crit. Care**, v.23, p.610-614, 2013.
- MARTINEZ-RUMAYOR, A. *et al.* Biology of the natriuretic peptides. **Am. J. Card.**, v.101, p.3-8, 2009.
- MEURS, K.M. *et al.* A cardiac myosin binding protein C mutation in the Maine Coon cat with familial hypertrophic cardiomyopathy. **Hum. Mol. Genet.**, v.14, p.3587-3593, 2005.
- MESQUITA, L.P. *et al.* Prevalência e aspectos anatomopatológicos das neoplasias primárias do coração, de tecidos da base do coração e metastáticas, em cães do Sul de Minas Gerais (1994-2009). **Pesq. Vet. Bras.**, v.32, n.11, p.1155-1163, 2012.
- MILLER, L.M.; GAL, A. Cardiovascular System and Lymphatic Vessels. In: ZACHARY, J.F. (Ed). **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 6.ed. St. Louis: Elsevier. 1394p. 2017.
- MIURA, M. *et al.* The histological features of a myocardial biopsy specimen in a patient in the acute phase of reversible catecholamine-induced cardiomyopathy due to pheochromocytoma. **Internal Med.**, v.56, p.665-671, 2017.
- O'BRIEN, P.J. Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity. **Toxicology**, v.245, p.206-218, 2008.
- OCARINO, N.M. *et al.* Sistema Cardiovascular. In: SANTOS R.L.; ALESSI A.C. (Ed.). **Patologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca. 856p. 2016.
- OLIVEIRA, P. *et al.* Retrospective review of congenital heart disease in 976 dogs. **J. Vet. Intern. Med.**, v.25, n.3, p. 477-483, 2011.
- OLSEN, T.F.; ALLEN, A.L. Causes of sudden and unexpected death in cats: A 10 year retrospective study. **Can. Vet. J.**, v.42, p.61-62, 2001.
- RADU, R.I. *et al.* Histological and immunohistochemical changes of the myocardium in

dilated cardiomyopathy. **J. Morphol. Embryol.**, v.53, p.269-275, 2012.

RAJ, S.; FRANCO, V.I.; LIPSHULTZ, S.E. Anthracycline-induced cardiotoxicity: a review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. **Curr. Treat. Options Cardiovasc. Med.**, v.16, n.315, p.1-14. 2014.

ROBINSON, W.F.; ROBINSON, N.A. Cardiovascular system. In: MAXIE, M.G. (Ed.). **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. v.3. 6 ed. St Louis: Elsevier. 572p. 2016.

SANFORD, S.E.; HOOVER, D.M.; MILLER, R.B. Primary cardiac granular cell tumour in a dog. **Vet. Pathol.**, v.21, p.489-494, 1984.

SANGSTER, J.K.; PANCIERA, D.L.; ABBOTT, J.A. Cardiac biomarkers in hyperthyroid cats. **J. Vet. Intern. Med.**, v.28, p.465-472, 2014.

SANTO, A.H. Potencial epidemiológico da utilização das causas múltiplas de morte por meio de suas menções nas declarações de óbito, Brasil, 2003. **Revta. Panam. Salud Públ.**, v.22, p.178-186, 2007.

SILVA, C.E.V.; CAMACHO, A.A. Alterações ecocardiográficas em cães sob tratamento prolongado com doxorubicina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, n.3, p.300-306, 2005.

SISSON, D. Neuroendocrine evaluation of cardiac disease. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.34, n.5, p.1105-1126, 2004.

SOUZA, N.N.F. *et al.* Ecocardiográfica da Cardiotoxicidade Aguda Induzida pela Doxorubicina em Ratos. **Rev. Bras. Ecocardiogr. Imagem Cardiovasc.**, v.22, n.3, p.20-25, 2009.

TANAKA, M. *et al.* Cellular localization and structural characterization of natriuretic peptide-expressing ventricular myocytes from patients with dilated cardiomyopathy. **J. Histochem. Cytochem.**, v.42, p.1207-1214, 1994.

TIDHOLM, A. Retrospective study of congenital heart defects in 151 dogs. **J. Small Anim. Pract.**, v.38, n.3, p.94-98, 1997.

TIDHOLM, A. *et al.* Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part I: Aetiology, clinical characteristics, epidemiology and pathology. **Vet. J.**, v.162, n.2, p.92-107.

TIDHOLM, A.; JÖNSSON, L. A retrospective study of canine dilated cardiomyopathy (189 cases). **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v.33, p.544-550, 1997.

TIDHOLM, A.; JÖNSSON, L. Histologic characterization of canine dilated cardiomyopathy. **Vet. Pathol.**, v.42, n.1, p.1-8, 2005.

TIDHOLM, A. *et al.* Congenital heart defects in cats: A retrospective study of 162 cats (1996-2013). **J. Vet. Cardiol.**, v.17, suppl.1, 215-219, 2015.

WALTER, J.H.; RUDOLPH, R. Systemic, metastatic, eu- and heterotope tumours of the heart in necropsied dogs. **J. Vet. Med.**, v.43, p.31-45, 1996.

WARE, W.A.; HOPPER, D.L. Cardiac tumors in dogs: 1982-1995. **J. Vet. Intern. Med.**, v.13, p.95-103, 1999.

WARMAN S.M. *et al.* Congestive heart failure caused by intracardiac tumours in two dogs. **J. Small Anim. Pract.**, v.47, p.480-483, 2006.

YONEZAWA, L. A. *et al.* Marcadores cardíacos na medicina veterinária. **Ciênc. Rural**, v.40, n.1, p.222-230, 2009.