



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE COM ÁREA
DE CONCENTRAÇÃO EM PATOLOGIA CLÍNICA

**RAZÃO CK-MB/CK COMO BIOMARCADOR DE LESÃO CARDÍACA EM CÃES
COM DIROFILARIOSE**

JOÃO ANTÔNIO GERMANO FIGUEREDO DE SOUZA

MOSSORÓ-RN

2024

JOÃO ANTÔNIO GERMANO FIGUEREDO DE SOUZA

**RAZÃO CK-MB/CK COMO BIOMARCADOR DE LESÃO CARDÍACA EM CÃES
COM DIROFILARIOSE**

Trabalho de conclusão de residência
apresentado no Programa de Residência em
Área Profissional de Saúde em Medicina
Veterinária da Universidade Federal Rural do
Semi-Árido como requisito para obtenção do
título de Especialista em Patologia Clínica

Área de concentração: Patologia Clínica.

Orientadora: Profa. Dra. Michelly Fernandes de Macedo

Co-orientador: MV. Me. Bruno Vinícios Silva de Araújo

MOSSORÓ-RN
2024

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Sr Souza, João Antônio Germano Figueredo de .
Razão CK-MB/CK como biomarcador de lesão
cardíaca em cães com dirofilariose / João Antônio
Germano Figueredo de Souza. - 2024.
33 f. : il.

Orientador: Michelly Fernandes de Macedo .
Coorientador: Bruno Vinícios Silva de Araújo.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Programa de Pós-
Graduação Residência em Medicina Veterinária, 2024.

1. Dirofilariose intracardíaca. 2. Lesão
cardíaca. 3. Razão CK-MB/CK. 4. Bioquímica. I.
Macedo , Michelly Fernandes de , orient. II.
Araújo, Bruno Vinícios Silva de , co-orient. III.
Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado o dom da vida e por toda a força passada através da fé e oração.

Agradeço aos meus amados pais, Francisco Germano de Souza Neto e Joselita Maria Figueredo Silva de Souza, por me amarem e terem me dado a educação e formação necessária até aqui. E, a toda a minha família materna e paterna.

Agradeço a minha amada noiva, Mônica Larissa Barra de Moraes, por todo apoio, carinho e por estar sempre presente nos bons e maus momentos da vida, crescendo junto comigo há 9 anos, e aos pais dela Dona Rita e Sr. Edson por todo suporte e ajuda dada a mim, aqui em Mossoró.

Agradeço também aos meus colegas da residência, por todo aprendizado e conhecimento compartilhado. Da mesma forma, agradeço a todos do HOVET-UFERSA e do PCVET, por toda ajuda.

Por fim, agradeço aos membros da banca, minha orientadora Michelly Fernandes de Macedo, meu coorientador Bruno Vinícios Silva de Araújo e M.v. Dr. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes, pela disponibilidade e por todo apoio necessário para o a realização deste trabalho.

“A força não vem de vencer. Suas lutas desenvolvem suas forças. Quando você atravessa dificuldades e decide não se render, isso é força.”

Arnold Schwarzenegger

RESUMO

A dirofilariose é uma doença parasitária causada pelo verme nematoide *Dirofilaria immitis*, o qual acomete, principalmente canídeos domésticos e selvagens causando graves alterações cardiopulmonares e sistêmicas em virtude da presença de vermes adultos em câmaras cardíacas direita e artéria pulmonar. Objetivou-se avaliar parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos relacionados com alterações clínicas, em 17 cães com dirofilariose intracardíaca, previamente diagnosticados por ecocardiografia. Todos os cães foram avaliados quanto à sintomatologia cardiopulmonar, achados ecocardiográficos, hemograma e bioquímicas séricas cardíacas, hepáticas e renais. Os sinais clínicos mais comuns foram cansaço em 41,1% (7/17) dos animais e arritmia em 35,2% (6/17). A avaliação ecocardiográfica evidenciou apenas 17,6% (3/17) dos cães com sinais de hipertensão pulmonar e baixa carga parasitária, na maioria dos animais. As bioquímicas séricas indicaram hiperproteinemia (7,77 g/dL, $p = 0,002$), hiperglobulinemia (4,84 g/dL, $p = 0,012$), aumento sérico de CK-MB (326,34 U/L, $p = 0,013$) e da razão CK-MB/CK (3,15, $p < 0,001$), além de hipocolesterolemia (162,24 mg/dL, $p = 0,014$) nos cães infectados. Das variáveis hematológicas, constatou-se anemia com redução do número de hemácias ($5,30 \times 10^6/\mu\text{L}$, $p = 0,001$) e hematócrito (36,24%, $p < 0,001$), aumento da razão neutrófilos/linfócitos (6,44, $p = 0,035$) e monocitopenia (257,65/ μL , $p = 0,031$) nos cães infectados, quando comparados aos valores de referência para espécie. As correlações entre CK-MB e CK ($r = 0,77$, $p < 0,001$) e entre a razão CK-MB/CK e CK ($r = -0,55$, $p = 0,021$) foram significativamente importantes na identificação de lesão cardíaca. Conclui-se que a utilização de exames hematológicos e bioquímicos podem indicar fortes características de doença cardíaca. Além disso, o uso da razão CK-MB/CK pode ser útil na avaliação da extensão do dano cardíaco em cães com dirofilariose intracardíaca.

Palavras-chave: Dirofilariose intracardíaca, lesão cardíaca, razão CK-MB/CK, bioquímica.

ABSTRACT

Heartworm disease is a parasitic disease caused by the nematode worm *Dirofilaria immitis*, which mainly affects domestic and wild canids, causing serious cardiopulmonary and systemic alterations due to the presence of adult worms in the right heart chambers and pulmonary artery. The aim was to evaluate hematological and serum biochemical parameters related to clinical alterations in 17 dogs with intracardiac heartworm disease, previously diagnosed by echocardiography. All the dogs were assessed for cardiopulmonary symptoms, echocardiographic findings, blood count and cardiac, hepatic and renal serum biochemistry. The most common clinical signs were fatigue in 41.1% (7/17) of the animals and arrhythmia in 35.2% (6/17). The echocardiographic evaluation showed that only 17.6% (3/17) of the dogs had signs of pulmonary hypertension and that the parasite load was low in most of the animals. Serum biochemistry showed hyperproteinemia (7.77 g/dL, $p = 0.002$), hyperglobulinemia (4.84 g/dL, $p = 0.012$), an increase in serum CK-MB (326.34 IU/L, $p = 0.013$) and the CK-MB/CK ratio (3.15, $p < 0.001$), as well as hypocholesterolemia (162.24 mg/dL, $p = 0.014$) in infected dogs. Among the hematological variables, there was anemia with a reduction in the number of red blood cells ($5.30 \times 10^6/\mu\text{L}$, $p = 0.001$) and hematocrit (36.24%, $p < 0.001$), increased neutrophil/lymphocyte ratio (6.44, $p = 0.035$) and monocytopenia ($257.65/\mu\text{l}$, $p = 0.031$) in the infected dogs, when compared to the reference values for the species. The correlations between CK-MB and CK ($r = 0.77$, $p < 0.001$) and between the CK-MB/CK ratio and CK ($r = -0.55$, $p = 0.021$) were significantly important in identifying cardiac damage. It is concluded that the use of hematological and biochemical tests can indicate strong characteristics of heart disease. In addition, the use of the CK-MB/CK ratio can be useful in assessing the extent of cardiac damage in dogs with intracardiac heartworm disease.

Keywords: Intracardiac heartworm disease, cardiac damage, CK-MB/CK ratio, biochemistry.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Regressão linear ilustrando as relações da razão entre CK-MB e CK. 26

Gráfico 2. Regressão linear ilustrando as relações da razão CK-MB/CK e CK. 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados da hematologia dos cães infectados com *D.immitis* intracardíaca em comparação com os valores de referências para cães saudáveis.21

Tabela 2 - Resultados das bioquímicas séricas dos cães infectados com *d.immitis* intracardíaca em comparação com os valores de referências para cães saudáveis.....23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assaye
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
CK-MB	Creatinoquinase - isoenzima MB
CK	Creatinoquinase
CEUA	Comitê de Ética no uso de animais
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
HOVET	Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia
RPM	Rotações por minuto
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
MHz	Milhão de Hertz
EUA	United States of America
IC	Intervalo de Confiança
SPRD	Sem Padrão Racial Definido
HP	Hipertensão Pulmonar
DP	Desvio padrão
U/L	Unidades por litro
mg/dL	Miligrama por Decilitro
g/dL	Grama por Decilitro
A/G	Razão Albumina/Globulina
µL	Microlitro
p	P-valor

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca Registrada
S	Sul/South
W	Oeste/West
°C	Graus Celsius
%	Percentual
<	Menor que
=	Igual a
°	Grau
'	Minutos
"	Segundos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS	16
2.1	<i>Objetivo geral</i>	<i>16</i>
2.2	<i>Objetivos específicos</i>	<i>16</i>
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1	<i>Local de estudo</i>	<i>17</i>
3.2	<i>Escolha dos animais.....</i>	<i>17</i>
3.3	<i>Dados epidemiológicos e sinais clínicos</i>	<i>17</i>
3.4	<i>Coleta de sangue.....</i>	<i>17</i>
3.7	<i>Avaliação ecocardiográfica.....</i>	<i>19</i>
3.8	<i>Análise estatística</i>	<i>19</i>
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5	CONCLUSÃO.....	28
	REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

A dirofilariose é uma infecção filarial de caráter zoonótico causada pelo parasita nematoide *Dirofilaria immitis*, transmitida por mosquitos do gênero Culicidae e que possui distribuição mundial, com maior prevalência em regiões tropicais e temperadas. Os canídeos domésticos e selvagens são os hospedeiros definitivos da doença, apesar de outras espécies como gatos, furões e humanos, também serem acometidas. A presença de microfilárias circulantes e, principalmente, formas adultas de *D.immitis* é capaz de causar lesões cardiopulmonares e sistêmicas em cães, tornando-a uma infecção grave e eventualmente fatal (McCall et al., 2008; Simón et al., 2012; Anvari et al., 2020).

A compreensão dos aspectos clínicos da *D.immitis* em cães é de grande importância para a medicina veterinária, devido ser uma das principais causas de cardiopatia adquirida na espécie (Baumgartner 2004). Apesar desse envolvimento cardíaco, a doença se manifesta primariamente nas artérias pulmonares e conforme evolui, os vermes adultos deslocam-se para o átrio e ventrículo direito do coração. Os cães infectados podem ser assintomáticos ou manifestarem sintomas que dependem da gravidade da doença, que normalmente inicia com tosse, dispneia, intolerância ao exercício e síncope, progredindo para insuficiência cardíaca direita e síndrome da veia cava, a qual pode desencadear redução do débito cardíaco, mioglobulinúria, hemólise, disfunções hepáticas e renais, e óbito (Ames; Atkins, 2020; Maerz, 2020; Batista et al., 2021; Romano et al., 2021; Oliveira et al., 2021; Rafailov et al., 2022; Sharma; Rathore, 2022).

Atualmente, a triagem diagnóstica para dirofilariose em cães assintomáticos ou suspeitos segue as recomendações da American Heartworm Society (AHS), a qual sugere o uso de testes para detecção de antígeno circulante, através de ensaios imunoenzimáticos (ELISA), e pesquisa direta de microfilárias circulantes, por meio da visualização em esfregaço sanguíneo e teste de Knott modificado. O uso conjunto destes testes com a PCR em tempo real tem demonstrado uma alta eficácia e confiança na detecção de *D.immitis* (Bezerra et al., 2021; Panetta et al., 2021; Negron et al., 2022). O uso de métodos alternativos de diagnóstico como a ecocardiografia também tem sido uma ferramenta muito útil na localização e quantificação da carga parasitária de vermes intracardíacos, através da observação de faixas lineares paralelas, que sugerem a sua presença. Além disso, ela é capaz

de estimar a probabilidade de hipertensão pulmonar, a qual é um dos principais achados ecocardiográficos em cães infectados, e identificar outros achados comuns à doença como regurgitação da valva tricúspide, achatamento do septo interventricular, hipertrofia do ventrículo direito, insuficiência pulmonar e dilatação das artérias pulmonares (Maerz, 2020; Romano et al., 2020).

A avaliação hematológica cães com dirofilariose, normalmente está associada à anemia regenerativa, leucocitose, eosinofilia, neutrofilia, linfopenia e trombocitopenia, enquanto as bioquímicas séricas mais relatadas são hiperproteinemia associado à hipoalbuminemia, além do aumento da alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, colesterol, fósforo, ureia e creatinina (Rath et al., 2014; Kim; Suh; Hyun, 2020; Changbaig Bezerra et al., 2021; Bendas et al., 2022; Kryvoruchenko, 2022; Kulnides et al., 2023).

De acordo com Atkinson et al. (2001), os biomarcadores são parâmetros biológicos que podem ser medidos e quantificados como indicadores de processos patogênicos ou de intervenção farmacológica. Na literatura, estudos relatam o aumento das concentrações séricas de biomarcadores cardiopulmonares como a troponina I cardíaca (cTnI), N-terminais do pró-hormônio peptídeo natriurético cerebral (NT-proBNP), mioglobina, dímero D e creatinoquinase (CK-MB), em cães com dirofilariose, sugerindo a sua utilização como possíveis marcadores de lesão cardíaca (Carretón et al., 2013; Carretón et al., 2014; Puente et al., 2019; Lee et al., 2020; Costa-Rodríguez et al., 2023). Considerando estes biomarcadores cardíacos, a creatinoquinase (CK) é uma enzima constituída por duas subunidades, a M (muscular) e B (cerebral), que resulta em três isoenzimas distintas (MM, BB e MB). A CK-BB: presente em cérebro e sistema digestório; a CK-MB: presente em tecido cardíaco; a CK-MM: presente em músculo estriado. A isoenzima “MB” (CK-MB) da Creatinoquinase, predomina no músculo cardíaco, sendo utilizada no monitoramento de infarto do miocárdio em humanos e lesão às células miocárdicas em cães (Aktas et al., 1993; Harvey; Mayer, 2004; Schober; Kirbach; Oechtering, 1999; Carretón et al., 2013).

No Brasil, vários estudos já evidenciaram a presença de cães infectados com *D.immitis* (Bettini et al., 2020; Soares et al. 2022; Jadjescki, et al., 2023), no entanto, ainda se observa uma escassez de trabalhos relatando as alterações hematológicas e bioquímicas, principalmente no uso da Creatinoquinase e sua fração “MB” (CK-MB), em cães com formas adultas intracardíacas de *D.immitis*. Nesse sentido, objetivou-se no presente estudo avaliar e

correlacionar os achados hematológicos e bioquímicos, enfatizando o uso da razão CK-MB/CK como potencial biomarcador de lesão cardíaca, em cães naturalmente infectados com dirofilariose intracardíaca, em Mossoró/RN.

2 OBJETIVOS

2.1 *Objetivo geral*

Avaliar os sintomas e achados ecocardiográficos, correlacionando-os aos parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos de cães com *D.immitis* intracardíaca.

2.2 *Objetivos específicos*

Avaliar o perfil hematológico e bioquímico sérico, enfatizando o uso da razão CK-MB/CK como possível biomarcador de lesão cardíaca em cães diagnosticados com dirofilariose intracardíaca.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética no uso de animais (CEUA/UFERSA), sob o parecer 26/2022 de 02 de junho de 2022.

3.1 *Local de estudo*

O estudo foi conduzido entre 2022 e 2023 no Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (HOVET-UFERSA), em Mossoró, Rio Grande do Norte, Nordeste brasileiro. O município de Mossoró (5° 11' 15"S, 37° 20' 39"W), segue a classificação climática W. Köppen, a qual insere a cidade no tipo climático BSw^h, caracterizado por clima seco e temperaturas elevadas, porém com o quadrimestre chuvoso, normalmente no término do verão (Lemos; Oliveira, 2021).

3.2 *Escolha dos animais*

Para o estudo, foram avaliados 17 cães naturalmente infectados com dirofilariose intracardíaca, diagnosticados previamente através de exame ecocardiográfico, apresentando algum tipo de sintomatologia cardiopulmonar associada à doença e sem histórico de doença cardíaca prévia.

3.3 *Dados epidemiológicos e sinais clínicos*

Os dados epidemiológicos incluíram cães, independente de sexo, idade e raça, previamente diagnosticados com dirofilariose intracardíaca, apresentando sintomas cardiopulmonares relacionados a *D.immitis*, os quais foram obtidos a partir de prontuários médicos disponibilizados pelos médicos veterinários do setor de clínica médica de pequenos animais do HOVET-UFERSA.

3.4 *Coleta de sangue*

Os animais foram submetidos à coleta de sangue, através de punção da veia cefálica ou jugular, com seringas de 5mL. O sangue coletado foi depositado em tubo contendo

anticoagulante EDTA para realização imediata de hemograma e outro tubo contendo ativador de coágulo, o qual foi centrifugado, em aparelho Omega (Laborline®), na velocidade de 3.000 RPM, por 3 minutos, para obtenção do soro, e armazenado em microtubo (Eppendorf®) à temperatura de -18°C para posterior mensuração dos parâmetros AST, ALT, colesterol, creatinina, ureia, proteínas totais e frações, CK e CK-MB.

3.5 *Análise hematológica*

A contagem total de hemácias foi realizada na proporção de 1:200, através da diluição de 5 µL de sangue total para 1 mL de solução fisiológica (cloreto de sódio a 0,9%), em seguida, com o auxílio de uma micropipeta de 10 µL, a diluição foi colocada em hemocítmetro, para contagem de hemácias em 5 retículos centrais, no qual o valor encontrado foi multiplicado pelo fator (10.000) (Thrall, 2014).

A contagem global de leucócitos foi realizada na proporção de 1:20, através da diluição de 10 µL de sangue total para 200 µL de líquido de Türk, posteriormente transferido para hemocítmetro com auxílio de uma micropipeta de 10 µL, onde foram contados todos os leucócitos presentes nos 4 retículos laterais do hemocítmetro e em seguida o valor encontrado foi multiplicado pelo fator (50) (Thrall, 2014).

A contagem estimada de plaquetas foi realizada em esfregaço sanguíneo, sendo contadas todas as plaquetas presentes em 5 campos aleatórios, em objetiva de imersão, e posteriormente a média plaquetária encontrada foi então multiplicada pelo fator (20.000) (Stockham; Scott, 2011). Todos os valores hematológicos foram comparados com os intervalos de referência para cães adultos saudáveis, descritos por Harvey (2012).

3.6 *Análise bioquímica sérica*

Todas as dosagens bioquímicas foram realizadas pelo método de espectrofotometria, sendo a alanina aminotransferase obtida por aparelho bioquímico semiautomático (BIOPLUS 2000), utilizando o kit comercial da marca InVitro®. Os parâmetros aspartato aminotransferase, colesterol, creatinina, ureia, proteínas totais e frações foram obtidos através de aparelho bioquímico automático (HUMANSTAR 80), e os kits comerciais da marca Bioclin®. A CK e CK-MB também foram mensuradas pelo mesmo aparelho automático, porém com uso do kit comercial da Vida Biotecnologia®. Os valores bioquímicos séricos

foram comparados com os intervalos de referência de cães adultos saudáveis, descritos por Kaneko (2008) e Alves et al. (2015).

3.7 Avaliação ecocardiográfica

Os exames ecocardiográficos transtorácicos foram realizados por um especialista em diagnóstico por imagem credenciado. Os cães foram avaliados quanto a localização e quantificação estimada de vermes adultos de *D.immtis* em câmaras cardíacas direita e artérias pulmonares, bem como quanto a presença de hipertensão pulmonar. O diagnóstico e os demais achados foram realizados através do aparelho Infinit 3V (Ultramedc®) e transdutores setoriais multifrequenciais (1–4 MHz ou 4–11 MHz).

3.8 Análise estatística

Os dados foram analisados no programa Microsoft Excel do pacote Office (v. 2013, Microsoft Corporation, Redmond, EUA). Testes t foram utilizados para comparação dos dados bioquímicos e de hemograma dos animais estudados em oposição aos valores médios dos intervalos de referência descritos na literatura por Kaneko (2008), Harvey (2012) e Alves et al. (2015). As variáveis detectadas pelo teste t como significativamente diferentes dos respectivos valores de referência foram ainda submetidas a testes de correlação de Pearson e análise de regressão entre as variáveis bioquímicas. Dados descritivos foram expressos como média e intervalos mínimo-máximo (valores de referência) ou de confiança (IC) de 95% (amostras). O nível de significância foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados 17 cães, previamente diagnosticados com formas adultas de *D.immitis* intracardíaca, através de exame ecocardiográfico. Dentre eles, 47% (8/17) eram machos e 52,9% (9/17) fêmeas, com idades entre 2 e 14 anos, sendo 82,3% (14/17) sem padrão racial definido, 5,8% (1/17) da raça Pinscher, 5,8% (1/17) Fox Paulistinha e 5,8% (1/17) Poodle Standart. Os cães foram avaliados quanto a presença de sintomas cardiorrespiratórios de acordo com o prontuário médico, onde constatou-se a presença de 23,5% (4/17) tosse, 35,2% (6/17) arritmia, 29,4% (5/17) perda de peso, 29,4% (5/17) intolerância a exercícios, 5,8% (1/17) sopro cardíaco, 11,6% (2/17) dispneia respiratória e 41,1% (7/17) cansaço.

Neste estudo, apesar da maioria dos cães com dirofilariose intracardíaca (82,3%) serem SPRD e (52,9%) fêmeas, estes fatores não foram significativamente influentes, o que vai de acordo com outros autores que não encontraram relação da raça e sexo com maior predisposição para adquirir a doença (Alberto; Rosas-Martinez; Pinilla-Leon, 2020; Dumitrache et al., 2021). Os sinais clínicos cardiopulmonares foram semelhantes aos descritos por Maerz (2020), o qual observou, principalmente, a presença de intolerância a exercício e tosse em cães com dirofilariose.

A avaliação ecocardiográfica prévia comprovou a presença de formas adultas intracardíacas de *D.immitis* em todos os cães, bem como a sua localização, carga parasitária estimada e sinais de hipertensão pulmonar. Quanto a localização, os vermes adultos foram visualizados 23,5% (4/17) em artéria pulmonar e átrio direito, 64,7% (11/17) em artérias pulmonares, 5,8% (1/17) em átrio direito e ventrículo direito, 5,8% (1/17) em artéria pulmonar e átrio direito e 5,8% (1/17) em artéria pulmonar e ventrículo direito. Quanto a carga parasitária de vermes intracardíacos 82,3% (14/17) possuíam baixa carga, 11,7% (2/17) acentuada carga e 5,8% (1/17) moderada carga. Quanto aos sinais de hipertensão pulmonar, apenas 17,6% (3/17) apresentavam sinais de hipertensão pulmonar, em contraste com 82,3% (14/17) que não apresentavam, o que sugere uma associação à baixa carga parasitária.

A localização de vermes em câmaras cardíacas direitas e artérias pulmonares, além da carga parasitária corroboram com os achados do estudo feito por Romano et al. 2021, os quais localizaram formas adultas em átrio direito e ventrículo direito, bem como em ramo direito da artéria pulmonar e tronco pulmonar.

Diversos estudos têm demonstrado a importância do exame ecocardiográfico, com o objetivo de se avaliar as pressões pulmonares e os danos secundários ao lado direito do coração (Maerz, 2020; Serrano-Parreño et al., 2017; Kim et al., 2019). Segundo Venco et al. 2014, os danos endoteliais aos vasos pulmonares, causado por *D.immitis* estão intimamente ligados a presença de hipertensão pulmonar e diminuição da elasticidade das artérias pulmonares. Neste estudo, apesar da maioria dos cães apresentarem pequena carga parasitária e presença de hipertensão pulmonar, a presença dos vermes intracardíacos provocou alterações hematológicas e bioquímicas séricas.

Os valores médios de todos os parâmetros hematológicos, bem como suas médias, desvio padrão e p-valor estão demonstrados na Tabela 1.

TABELA 1 - RESULTADOS DA HEMATOLOGIA DOS CÃES INFECTADOS COM *D.IMMITIS* INTRACARDÍACA EM COMPARAÇÃO COM OS VALORES DE REFERÊNCIAS PARA CÃES SAUDÁVEIS.

Parâmetros hematológicos / unidade	Média	± DP	Faixa de observação	Valores de referência ^{c/d}		P valor
				Média	Intervalo de referência	
Eritrócitos (x10 ⁶ /μL)	5,30	± 1,70	2,30 – 7,95	7,0	5,7 – 8,3 ^c	0,001*
Ht (%)	36,24	± 10,59	17 - 49	48,0	40 - 56	0,001*
VCM (fL)	68,88	± 6,94	60 - 80	69,0	64,0 – 74,0 ^c	0,945
Leucócitos globais (/μl)	13723,53	± 10388,97	3600 - 42600	9000	5000 – 13000 ^c	0,079
Bastonetes (/μl)	74,94	± 215,40	0 - 852	150	0 – 300 ^c	0,170
Neutrófilos (/μl)	10482,59	± 8915,04	2652 - 37062	5800	2700 – 8900 ^c	0,052
Eosinófilos (/μl)	1143,23	± 1448,19	36 - 5406	700	100 – 1300 ^c	0,225

Linfócitos (/μl)	1763,47	± 1167,53	212 - 5100	2150	900 – 3400 ^c	0,191
Monócitos (/μl)	257,65	± 335,51	36 - 1272	450	100 – 800 ^c	0,031*
Plaquetas (x10 ³ /μl)	275	± 225,56	40 - 1020	265	134 – 396 ^c	0,857
Razão Neutrófilo/Linfócito	10,33	13,55	1,2 – 46,5	2,8	1,0 – 4,7 ^d	0,035*

A presença do “*” indica diferenças estatisticamente significativas quando comparada aos valores médios dos cães com dirofilariose intracardíaca e a referência para a espécie.

^cHarvey (2012)

^dBecher et al. (2021)

Fonte: Autoria própria, 2024.

Quanto às variáveis hematológicas do eritrograma, os valores médios de hemácias ($5,30 \times 10^6/\mu\text{L}$, $p = 0,001$) e hematócrito (36,24%, $p < 0,001$) foram significativamente reduzidos nos cães com dirofilaria, quando comparado aos valores médios da referência para a espécie.

Essa redução nos valores médios relacionados ao eritrograma indicam um quadro de anemia associado à doença, o que é bastante observado em diversos estudos (Niwetpathomwat, et al., 2007; Lefkaditis, et al. 2008; Kim; Suh; Hyun, 2020; Kryvoruchenko, 2022). A presença de anemia em cães com dirofilariose, normalmente está associada à hemólise intravascular causada pela obstrução que os vermes adultos causam na circulação sanguínea, o que gera turbilhonamento mecânico e dano aos eritrócitos e a parede vascular (Schaer, 2003; Madril et al. 2020).

No leucograma, o valor médio absoluto de monócitos ($257,65/\mu\text{L}$, $p = 0,031$) foi significativamente reduzido, no grupo com dirofilaria, quando comparado aos valores médios da referência para a espécie. Este resultado foi contrário ao encontrado por Bendas et al. (2022), que relataram monocitose em cães com dirofilariose. Os monócitos presentes na corrente sanguínea reabastecem os macrófagos teciduais, os quais são responsáveis pela remoção de detritos necróticos, eliminação de parasitas e corpos estranhos, normalmente o seu aumento está associado às doenças inflamatórias agudas ou crônicas, que demandem alto consumo dos macrófagos. A monocitopenia, no entanto, não tem grande relevância, devido à

baixa quantidade de monócitos no sangue periférico, podendo inclusive serem subcontados durante o diferencial de 100 células, devido à sua má distribuição no esfregaço sanguíneo (Raskin; Latimer; Tvedten, 2004).

Além disso, o valor médio da razão neutrófilos/linfócitos (6,44, $p = 0,035$) foi significativamente aumentado, quando comparado ao valor médio da referência para a espécie. Apesar da escassez de estudos sobre a importância da razão entre neutrófilos e linfócitos como biomarcador inflamatório na medicina veterinária, principalmente em cães com dirofilariose, diversos estudos têm demonstrado que o aumento dessa relação neutrofílica-linfocitária diante de doenças inflamatórias sistêmicas, tornando-a clinicamente útil (Pierini et al. 2019; Becher et al., 2021). As demais variáveis hematológicas não sofreram alterações significativas nos seus valores médios.

Os valores médios de todos os parâmetros bioquímicos séricos, bem como suas médias, desvio padrão e p-valor estão demonstrados na Tabela 2.

TABELA 2 - RESULTADOS DAS BIOQUÍMICAS SÉRICAS DOS CÃES INFECTADOS COM *D. IMMITIS* INTRACARDÍACA EM COMPARAÇÃO COM OS VALORES DE REFERÊNCIAS PARA CÃES SAUDÁVEIS.

Parâmetros bioquímicos séricos / unidade	Média	± DP	Faixa de observação	Valores de referência ^{a/b}		P valor
				Média	Intervalo de referência	
ALT (U/L)	51,18	± 31,60	13 - 122	61,50	21 – 102 ^a	0,197
AST (U/L)	69,47	± 83,03	23 - 336	44,50	23 – 66 ^a	0,233
Colesterol (mg/dL)	162,24	± 59,94	46 - 314	202,50	135 – 270 ^a	0,014*
Proteínas Totais (g/dL)	7,77	± 1,74	5,68 – 11,76	6,25	5,4 – 7,1 ^a	0,002*
Albumina (g/dL)	2,93	± 0,61	2,14 – 4,47	2,95	2,6 – 3,3 ^a	0,901

Globulinas (g/dL)	4,84	± 1,86	2,33 – 9,23	3,55	2,7 – 4,4 ^a	0,012*
Razão A/G	0,70	± 0,33	0,27 – 1,48	0,85	0,59 – 1,11 ^a	0,084
CK (U/L)	128,35	± 94,24	24,7 – 388,6	166,50	26 – 307 ^b	0,115
CK-MB (U/L)	326,34	± 218,63	66,03 – 974	178,50	95 – 262 ^b	0,013*
Creatinina (mg/dL)	0,97	± 0,29	0,5 – 1,52	1,00	0,5 – 1,5 ^a	0,689
Ureia (mg/dL)	62,47	± 61,55	19 – 271	40,45	21 – 59,9 ^a	0,160
Razão CK- MB/CK	3,15	± 1,59	1,1 – 6,7	1,07	0,04 – 2,11 ^b	0,000*

A presença do “*” indica diferenças estatisticamente significativas quando comparado os valores médios dos cães com dirofilariose intracardíaca e a referência para a espécie.

^a Kaneko (2008)

^b Alves et al. (2015)

Fonte: Autoria própria, 2024.

Das variáveis bioquímicas séricas analisadas houve aumento significativo nos valores médios de proteínas totais (7,77 g/dL, $p = 0,002$) e globulinas (4,84 g/dL, $p = 0,012$) nos cães infectados, quando comparado aos valores de referência para a espécie. Isso pode ser explicado devido à hiperglobulinemia, desenvolvida durante a resposta humoral causada pela *D.immitis*. Este aumento das concentrações séricas de globulinas ocorre em função da presença de inflamações crônicas, que aumentam a produção de imunoglobulinas, como a IgG (Asawakarn, et al., 2015).

A CK-MB (326,34 U/L, $p = 0,013$) também aumentou significativamente seus valores médios, quando comparada aos valores médios da referência para a espécie. Em seus

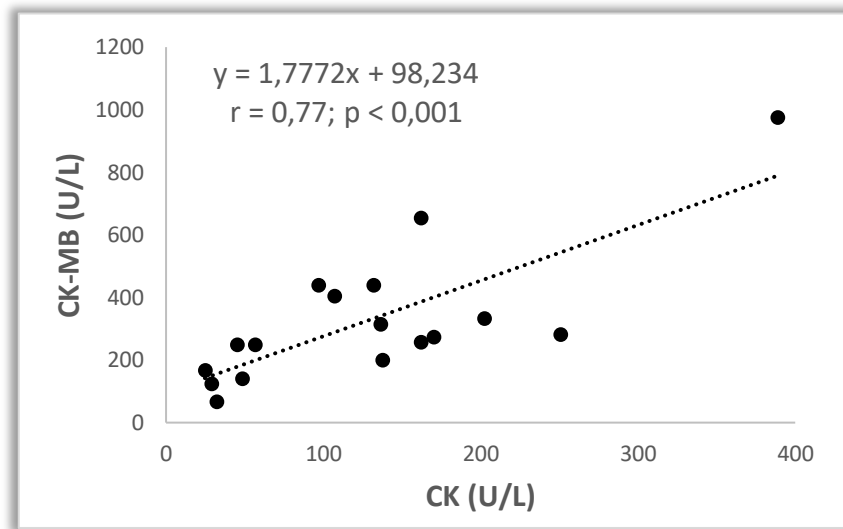
estudos, Carretón, et al. (2013) relataram essa mesma elevação nos valores séricos de CK-MB, em cães com alta carga parasitária, sugerindo o seu uso como um possível biomarcador de dano miocárdico, durante terapia aduítica. Em outro estudo realizado por Kitagawa, et al. (1991), eles puderam observar que cães com dirofilariose grave apresentavam maiores níveis de CK-MB quando comparados a grupos controle e assintomáticos. Uma das explicações para esse aumento ocorre devido a presença de vermes adultos nas câmaras cardíacas direita do coração, principalmente em ventrículo direito, podendo ocasionar perda da matriz de colágeno no miocárdio com consequente dilatação do ventrículo direito, culminando em perda de função e arquitetura cardíaca (Wang, et al. 2005). Além disso, diante da possibilidade de necrose miocárdica pode haver liberação da isoenzima CK-MB para o meio extracelular (Diniz; Schwartz; Collicchio-Zuanaze, 2007).

A significativa elevação do valor médio da razão CK-MB/CK (3,15, $p < 0,001$) em cães infectados vai de acordo com o mencionado por Melo et al. (2008), a qual relata que o aumento sérico de CK-MB em conjunto com o CK total, pode indicar apenas esforço físico, entretanto quando esse CK-MB não é acompanhado pelo CK total, isso pode ser considerado um forte indicativo de lesão muscular cardíaca.

Em contraste, o valor médio de colesterol (162,24 mg/dL, $p = 0,014$) nos cães infectados foi significativamente reduzido, quando comparado ao valor médio da referência para a espécie, o que sugere uma possível redução devido a perda de peso relacionada aos sintomas clínicos cardiopulmonares associados à dirofilariose. Essa teoria pode fazer sentido, de acordo com um estudo realizado por Piantedosi, et al. (2020), ao qual observaram redução nos níveis séricos de colesterol em cães submetidos a um programa de perda de peso.

As variáveis bioquímicas CK-MB e CK foram analisadas e correlacionadas nos cães infectados, sendo duas correlações significativamente importantes para o estudo, conforme demonstra o **gráfico 1** e **gráfico 2**, respectivamente.

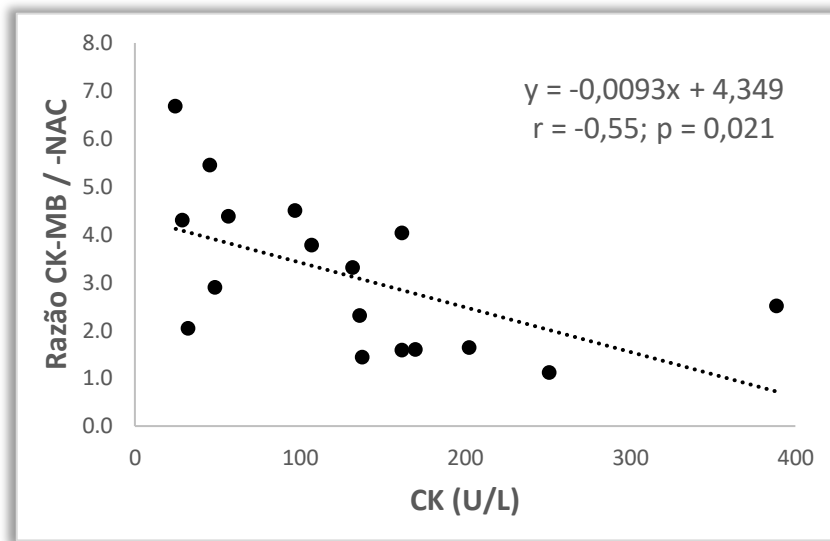
Gráfico 1. Regressão linear ilustrando as relações da razão entre CK-MB e CK.



Fonte: Dados pessoais, 2024.

Diante do que já foi citado por Melo et al. (2008), que descreveram a elevação dos níveis séricos de CK-MB, sem o aumento de CK, diante de lesão miocárdica, a correlação inversa entre CK-MB e CK ($r = 0,77$, $p < 0,001$), foi significativa, o que foi contrário ao resultado encontrado por Alves et al. (2015), que não observaram valor significativo ($p \leq 0,05$) em cães com cardiopatia. Dessa forma, através da equação foi possível prever o valor CK-MB, apenas com o resultado do valor de CK total. Este achado pode ser muito útil diante da impossibilidade de mensurar a CK-MB em laboratório, podendo ser utilizado o CK total como seu substituto, onde o valor encontrado de CK total pode ser utilizado na fórmula $y = -0,0093x + 4,349$ para estimar o valor de CK-MB. Essa correlação foi de grande importância para o estudo, devido à escassez de estudos sobre o seu uso como potencial biomarcador de lesão miocárdica em cães com dirofilariose intracardíaca.

Gráfico 2. Regressão linear ilustrando as relações da razão CK-MB/CK e CK.



Fonte: Dados pessoais, 2024.

Da mesma forma, foi encontrada uma correlação inversa e significativa entre a razão CK-MB/CK e CK ($r = -0,55$, $p = 0,021$), sendo possível prever o valor da razão CK-MB/CK-NAC a partir do valor de CK-NAC, utilizando-se da equação $y = -0,0093x + 4,349$.

5 CONCLUSÃO

Diante do que foi exposto ao longo do estudo, a dirofilariose intracardíaca é uma das principais causas de doença cardiovascular e sistêmica em cães, sendo de grande importância a avaliação e correlação entre os achados clínicos, ecocardiográficos e laboratoriais, principalmente no que diz respeito às alterações hematológicas e bioquímicas séricas. Além disso, este estudo demonstrou a importância da mensuração da isoenzima CK-MB bem como da razão CK-MB/CK, onde observa-se um aumento de CK-MB na proporção de 1,8 vezes maior que o CK total. Em virtude desse aumento significativo da razão CK-MB/CK, este estudo demonstrou a utilidade desse biomarcador na identificação de lesão cardíaca, em cães naturalmente infectados com dirofilariose intracardíaca, podendo favorecer o seu prognóstico.

REFERÊNCIAS

- AKTAS, M. et al. Creatine kinase in the dog: a review. **Veterinary research communications**, v. 17, p. 353-369, 1993.
- ALBERTO, Florez-MuñozAngel; ROSAS-MARTINEZ, Ariel; PINILLA-LEÓN, Juan Carlos. Prevalência de *Dirofilaria immitis* em cães de abrigo na região metropolitana de Bucaramanga, Colômbia. 2020.
- ALVES, A.C. et al. Uso de biomarcadores ck-nac, ck-mb e troponina i em cães com doença cardíaca. **Archives of Veterinary Science**, v.20, n.2, p.116-121, 2015.
- AMES, Marisa K.; ATKINS, Clarke E. Tratamento de cães com dirofilariose grave. **Parasitologia Veterinária**, v. 283, p. 109131, 2020.
- ANVARI, Davood et al. O status global da *Dirofilaria immitis* em cães: uma revisão sistemática e meta-análise baseada em artigos publicados. **Pesquisa em ciência veterinária**, v. 131, p. 104-116, 2020.
- ASAWAKARN, Sariya et al. Perfis de proteína sérica e proteína C reativa na filariose canina natural. **Mundo Veterinário**, v. 14, n. 4, pág. 860, 2021.
- BATISTA, Jael Soares et al. ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS E HISTOPATOLÓGICAS EM CÃES PARASITADOS POR *Dirofilaria immitis* (LEIDY, 1856) EM MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL. **Atualidades na Saúde e Bem-Estar Animal**, 2021.
- BAUMGARTNER, C.; GLAUS, T. M. Erworbene herzerkrankungen beim hund: Eine retrospektive analyse. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v. 146, n. 9, p. 423-430, 2004.
- BECHER, Anja et al. Blood neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) as a diagnostic marker in dogs with chronic enteropathy. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 33, n. 3, p. 516-527, 2021.
- BENDAS, Alexandre José Rodrigues et al. Clinical and blood count findings in dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 44, 2022.
- BETTINI, Carlos Maia et al. Heartworm disease in a dog in the region of Maringá, PR, Brasil-case report. 2020.
- BEZERRA, Lorena Santos et al. Perfil epidemiológico, hematológico e bioquímico em cães com *Dirofilaria* sp. no Ceará. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e23010817252-e23010817252, 2021.
- BEZERRA, Lorena Santos et al. Perfil epidemiológico, hematológico e bioquímico em cães com *Dirofilaria* sp. não, Ceará. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 8, pág. e23010817252-e23010817252, 2021.

CARRETÓN, E. et al. Biomarcadores cardiopulmonares e inflamatórios na avaliação da gravidade da dirofilariose canina. **Parasitologia Veterinária**, v. 206, n. 1-2, pág. 43-47, 2014.

CARRETÓN, E. et al. Utilidade de biomarcadores cardíacos durante o tratamento adulticida da dirofilariose (*Dirofilaria immitis*) em cães. **Parasitologia veterinária**, v. 197, n. 1-2, pág. 244-250, 2013.

COSTA-RODRÍGUEZ, Noelia et al. Usefulness of NT-proBNP in dogs with heartworm: could this biomarker be useful to evaluate pulmonary hypertension? **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 292, 2023.

DINIZ, Pedro Paulo Vissoto de Paiva; SCHWARTZ, Denise Saretta; COLLICCHIO-ZUANAZE, Rita de Cássia. Cardiac trauma confirmed by cardiac markers in dogs: two case reports. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 85-89, 2007.

DUMITRACHE, Mirabela Oana et al. Um levantamento epidemiológico de *Dirofilaria* spp. e *Acanthocheilonema* spp. em cães da República da Moldávia. **Parasitas e Vetores**, v. 14, p. 1-7, 2021.

HARVEY, DJ Meyer and JW; MAYER, J. W. Veterinary Laboratory Medicine—Interpretation and Diagnosis. **Third editin, SAUNDERS**, 2004.

HARVEY, J. W. Veterinary Hematology: a diagnostic guide and color atlas. Saint Louis Saunders Elsevier, 2012. 368p

JADJESCKI, Caio Alexssander Ramiro et al. Dirofilariose canina no litoral norte do Espírito Santo-relato de caso: Canine heartworm disease on the northern coast of Espírito Santo-case report. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 6, n. 2, p. 1187-1195, 2023.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6. ed. Academic Press, 2008. 928p.

KIM, So-Young et al. Comparação das características radiográficas e ecocardiográficas entre cães pequenos e grandes com dirofilariose. **Revista de clínicas veterinárias**, v. 36, n. 4, pág. 207-211, 2019.

KIM, Su-Jung; SUH, Sang-Il; HYUN, Changbaig. Evaluation of red blood cell profiles in dogs with heartworm disease. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 84, n. 4, p. 265-271, 2020.

KITAGAWA, Hitoshi et al. Serum creatine kinase activities in dogs with dirofilariasis. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 53, n. 4, p. 569-575, 1991.

KRYVORUCHENKO, D. Parâmetros hematológicos de cães para parasitismo *Dirofilaria immitis*. **Revista ucraniana de ciências veterinárias e agrícolas**, v. 1, pág. 36-41, 2022.

KULNIDES, Narong et al. Incidence and Hematological Changes in Dogs Infected with *Dirofilaria immitis* in Thailand. **World**, v. 13, n. 1, p. 103-108, 2023.

LEE, Tae-Rim et al. Evaluation of Serum NT-proBNP and Cardiac Troponin I Concentrations in Dogs with Heartworm Disease. **Journal of veterinary clinics**, v. 37, n. 6, p. 311-316, 2020.

LEFKADITIS, MA et al. Estudo das alterações hematológicas e bioquímicas em cães infectados por *Dirofilaria immitis*. **Boletim da Universidade de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária Cluj-Napoca**, v. 2, pág. 60-65, 2008.

Lemos filho, l. c. a. espínola sobrinho, j.; oliveira júnior., h. s. clima e recursos hídricos na bacia hidrográfica do apodi-mossoró-rn. in: carvalho, r. g. (org.). rio apodi mossoró: meio ambiente e planejamento. mossoró/rn. eduern, p. 37-62, 2021.

MADRIL, Adeline Bogo et al. Perfil hematológico de cães infectados por *Dirofilaria immitis*. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 12, n. 2, 2020.

MCCALL, John W. et al. *Dirofilariose* em animais e humanos. **Avanços na parasitologia**, v. 66, p. 193-285, 2008.

MELO, M. M. et al. Intoxicação experimental com extratos de *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em camundongos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 631-640, 2008.

Negron, V., Saleh, MN, Soboty, C. *et al.* qPCR baseado em sonda como uma alternativa ao teste de Knott modificado na triagem de cães para infecção por *dirofilariose (Dirofilaria immitis)* em combinação com testes de detecção de antígeno. *Vetores de parasitas* **15**, 306 (2022).

NIWETPATHOMWAT, Anuchai et al. Um estudo retrospectivo da hematologia clínica e dos testes bioquímicos séricos realizados em casos de *dirofilariose* canina em uma população de um hospital veterinário em Bangkok, Tailândia. **Pesquisa em ciência veterinária**, v. 82, n. 3, pág. 364-369, 2007.

OLIVEIRA, Letícia B. et al. *Dirofilariose* subcutânea e cardiopulmonar em cão. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 8, pág. 854, 2021.

PANETTA, Jessica L. et al. Vários testes de diagnóstico demonstram um risco aumentado de *dirofilariose* canina no norte de Queensland, Austrália. **Parasitas & Vetores**, v. 14, n. 1, pág. 393, 2021.

PIANTEDOSI, Diego et al. Efeito de um programa de perda de peso no perfil bioquímico e imunológico, nos níveis séricos de leptina e nos parâmetros cardiovasculares em cães obesos. **Fronteiras na Ciência Veterinária**, v. 7, p. 398, 2020.

PIERINI, A. et al. Relação neutrófilos-linfócitos, glóbulos vermelhos nucleados e anormalidades eritrocitárias na síndrome da resposta inflamatória sistêmica canina. **Pesquisa em ciência veterinária**, v. 126, p. 150-154, 2019.

PUENTE, M. de la et al. Uso de biomarcadores como indicadores prognósticos em cães com *dirofilariose* natural. 2019.

RAFAILOV, Radoslav et al. Achados patomorfológicos em cães com *dirofilariose* espontânea. **Tradição & Modernidade em Medicina Veterinária**, v. 7, n. 1, 2022.

RASKIN, Rosa E.; LATIMER, Kenneth S.; TVEDTEN, Haroldo. Distúrbios leucocitários. **Diagnóstico clínico de pequenos animais por métodos laboratoriais**, p. 63, 2004.

RATH, PK et al. Observações hematobioquímicas na dirofilariose naturalmente afetada em cães em Odisha. **Carne Sci**, v. 383-90, 2014.

Romano AE, Saunders AB, Gordon SG, Wesselowski S. Vermes intracardíacos em cães: Características clínicas e ecocardiográficas em 72 casos (2010-2019). **J Vet Estagiário Médico**. 2021; 35:88–97.

ROMANO, Abigail E. et al. Intracardiac heartworms in dogs: Clinical and echocardiographic characteristics in 72 cases (2010-2019). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 1, p. 88-97, 2021.

SCHAER, Michael (Ed.). **Medicina clínica do cão e do gato**. Imprensa CRC, 2009.

SCHOBBER, Karsten E.; KIRBACH, Babett; OECHTERING, Gerhard. Avaliação não invasiva de lesão celular miocárdica em cães com suspeita de contusão cardíaca. **Revista de Cardiologia Veterinária**, v. 2, pág. 17-25, 1999.

SERRANO-PARREÑO, B. et al. Avaliação da hipertensão pulmonar e do estado clínico em cães com dirofilariose pelo Índice de Distensibilidade da Artéria Pulmonar Direita e outros parâmetros ecocardiográficos. **Parasitas & vetores**, v. 10, n. 1, pág. 1-6, 2017.

SHARMA, S. K.; RATHORE, Garima. Clínico-therapeutic studies on canine heartworm. **Indian Journal of Canine Practice**, v. 14, n.2, 2022.

SIMÓN, Fernando et al. Dirofilariose humana e animal: o surgimento de um mosaico zoonótico. **Revisões de microbiologia clínica**, v. 25, n. 3, pág. 507-544, 2012.

SOARES, Laynaslan A. et al. Parasitological, serological and molecular diagnosis of *Dirofilaria immitis* in dogs in Northeastern Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 236, p. 108233, 2022.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. **Plaquetas**. In: _____. Fundamentos de patologia clínica veterinária. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 187-212.

THRALL, Mary Anna. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, 2007. 582 p. ISBN

TUDOR, Niculae et al. Radiographic cardiopulmonary changes in dogs with heartworm disease. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 19, n. 6, p. 9918-9924, 2014.

VENCO, Luís; MIHAYLOVA, Liliya; BOON, June A. Índice de Distensibilidade da Artéria Pulmonar Direita (Índice RPAD). Um estudo de campo de um método ecocardiográfico para detectar o desenvolvimento precoce de hipertensão pulmonar e sua gravidade mesmo na ausência de jatos regurgitantes para avaliação Doppler em cães infectados por dirofilariose. **Parasitologia veterinária**, v. 206, n. 1-2, pág. 60-66, 2014.

WANG, Jiunn-Shiow et al. Alteração da matriz colágena extracelular no miocárdio de caninos infectados por *Dirofilaria immitis*. **Parasitologia veterinária**, v. 131, n. 3-4, pág. 261-265, 2005.