



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**CARDIOMIOPATIA DILATADA CANINA – DA ETIOLOGIA À TERAPÊUTICA, O QUE HÁ
DE NOVO?**

**Mariana Gusmão Pinheiro Magano Canha
Coimbra, julho de 2019**



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CARDIOMIOPATIA DILATADA CANINA – DA ETIOLOGIA À TERAPÊUTICA, O QUE HÁ DE NOVO?

Coimbra, julho de 2019

Mariana Gusmão Pinheiro Magano Canha

Aluna do Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Prof. Dra. Liliana Montezinho

Arguente: Prof. Dra. Elisabete Jorge

Orientador: Prof. Dra. Ana Calado

Orientador Interno

Prof. Dra. Ana Calado

Coorientador Interno

Dr. Francisco Nunes

Orientadores Externos

Dra. Iolanda Navalon

Hospital Veterinário ARS

Prof. Dr. Luís Lobo

Hospital Veterinário do Porto

Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em
Medicina Veterinária da EUVG

“It always seems impossible until it’s done”

Nelson Mandela

Agradecimentos

Agradeço à minha Orientadora interna, Professora Doutora Ana Calado e ao meu Coorientador interno Mestre Francisco Nunes pelos ensinamentos, disponibilidade e ajuda que contribuíram para a elaboração desta tese.

Agradeço à minha Orientadora externa Doutora Iolanda Navalon do Hospital Veterinário ARS de Barcelona e a toda a sua equipa pela simpatia, boa receção, transmissão de conhecimentos e por me mostrarem a importância de um trabalho de equipa de excelência.

Agradeço ao meu Orientador externo Professor Doutor Luís Lobo e à Equipa do Hospital Veterinário do Porto pelo bom acolhimento e transmissão de conhecimentos, contribuindo assim de forma muito positiva para a minha formação profissional e pessoal.

Aos meus pais, que me apoiaram sempre e proporcionaram a realização de um sonho de infância, sem eles este percurso não teria sido possível. Um agradecimento muito especial à minha mãe pelas correções e ensinamentos que sempre levarei comigo.

Agradeço aos meus tios, que me acompanharam nesta viagem, aliviaram as minhas crises de ansiedade e sempre estiveram presentes.

Agradeço aos meus avós, pelo apoio, compreensão e por sempre acreditarem nas minhas capacidades.

Agradeço à Marta pelas horas de estudo partilhadas, as longas chamadas, as longas viagens, a partilha de angústias, dúvidas, nervos e pausas para o café, mas também, e acima de tudo, de muito divertimento; e à Mariana pela partilha destes 6 anos com muito estudo, brincadeiras, compreensão e companheirismo. Sem vocês esta jornada teria sido muito mais difícil.

E por fim agradeço aos meus amigos de quatro patas, o Lucas, o Max e o Simba que me inspiraram, incentivaram e deram forças para seguir este meu caminho.

Obrigada a todos!

Índice

Índice de Figuras.....	vi
Lista de Abreviaturas.....	vii
Resumo	2
Abstract	3
1. Introdução	4
2. Cardiomiopatia Dilatada Canina	5
2.1. Etiologia.....	6
Cardiomiopatias Hereditárias.....	6
Cardiomiopatias Adquiridas	8
2.2. Fisiopatologia	11
2.3. Progressão e Apresentação Clínica da Doença	12
3. Exames Complementares de Diagnóstico.....	13
3.1. Análises Clínicas Laboratoriais	14
3.2. Eletrocardiografia	16
3.3. Ecocardiografia.....	16
3.4. Radiografia	17
3.5. Diagnóstico Anatomopatológico.....	18
3.6. Outras Técnicas Diagnósticas.....	18
4. Tratamento.....	19
Terapia Clássica.....	19
Novas Abordagens Terapêuticas	21
5. Prognóstico	22
6. Considerações Finais.....	23
7. Referências Bibliográficas.....	24

Índice de Figuras

Figura 1 - Esquema da variação morfológica dos vários tipos de cardiomiopatias. A-Coração normal. B-Cardiomiopatia dilatada. C-Cardiomiopatia hipertrófica. D-Cardiomiopatia restritiva. E-Cardiomiopatia arritmogénica do ventrículo direito. F-Cardiomiopatia não classificada. Adaptado de Maisch et al., 2012.
..... 4

Figura 2 - Terapia génica com recurso ao vetor viral adenovírus. Adaptado de <https://ghr.nlm.nih.gov/>
..... 22

Lista de Abreviaturas

AAV-9 - Adenovírus serotipo 9

ANP - Peptídeo natriurético atrial

ATP - Adenosina trifosfato

BNP - Peptídeo natriurético tipo B

BSA - Área de superfície corporal

CMD - Cardiomiopatia dilatada

cTn-I - Troponina cardíaca I

CVP - Complexos ventriculares prematuros

ECA - Enzima de conversão da angiotensina

ECG - Eletrocardiograma

FA - Fibrilhação auricular

IC - Insuficiência cardíaca

ICC - Insuficiência cardíaca congestiva

IECAs - Inibidores da enzima de conversão da angiotensina

LVEDV - Volume diastólico final do ventrículo esquerdo

NT-proBNP - Fragmento N-terminal da pró-hormona BNP

PDK4 - Gene piruvato desidrogenase quinase 4

PET - Tomografia de emissão de positrões

RMN - Ressonância magnética nuclear

SERCA2a - Bomba de cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático

SPECT - Tomografia computadorizada de emissão de fóton único

SRA(A) - Sistema renina-angiotensina-aldosterona

STRN - Gene estriatina

T3 - Hormona tiroideia triiodotironina

TTN - Gene titina

VE - Ventrículo esquerdo

VEGF-B - Fator de crescimento do endotélio vascular - B

Cardiomiopatia Dilatada Canina – da Etiologia à Terapêutica, O Que Há de Novo?

Mariana Gusmão Pinheiro Magano Canha^a, Francisco Nunes^{b, c}, Ana Calado^{a, d}

^a Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário - Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (mariana.canha@hotmail.com)

^b Unidade de Investigação em Epidemiologia, Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto (ISPUP), Rua das Taipas 135, 4050-091, Porto, Portugal

^c Departamento de Patologia e Imunologia Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS), Universidade do Porto, Rua Jorge de Viterbo Ferreira 228, 4050-313, Porto, Portugal (franciscojvcnunes@gmail.com)

^d Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG), Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes, 197 Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (anacaladolopes@gmail.com)

Resumo

As doenças cardíacas são muito prevalentes na população canina e são responsáveis por uma elevada morbidade e mortalidade nesta espécie. Esta dissertação de mestrado integrado tem como objetivo efetuar uma revisão bibliográfica no que respeita ao estado da arte sobre a cardiomiopatia dilatada na espécie canina, desde a sua etiologia, apresentação clínica, diagnóstico e terapêutica.

A seguir à doença degenerativa da válvula mitral, a cardiomiopatia dilatada (CMD) é a patologia cardíaca mais comum na prática clínica veterinária e caracteriza-se por uma dilatação das câmaras cardíacas, redução da contratilidade do miocárdio e, conseqüentemente, uma disfunção sistólica e diastólica. Esta doença é de evolução lenta e progressiva, levando à insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e a arritmias que podem culminar com a morte do animal.

A etiologia da CMD é geralmente desconhecida, no entanto existem diversos fatores predisponentes para o seu desenvolvimento. Os fatores genéticos representam uma das principais causas desta doença, como tem sido evidenciado nos últimos anos por múltiplos estudos que suportam e comprovam o seu carácter hereditário, nomeadamente em linhas familiares de raça Doberman Pinscher, tida classicamente como modelo de estudo desta patologia. O diagnóstico de CMD baseia-se essencialmente no uso da ecocardiografia, acompanhado da eletrocardiografia, da radiografia torácica e de exames laboratoriais. Mais recentemente também a medicina nuclear tem sido aplicada nesta área da clínica veterinária. O seu tratamento é fundamentalmente de suporte e tem como objetivo controlar os sintomas da ICC, promover a qualidade de vida do animal e aumentar a sua sobrevivência. Na CMD verifica-se que ocorrem alterações na dinâmica do cálcio e do ritmo da apoptose dos cardiomiócitos, o que justifica um prognóstico reservado em animais tratados de forma paliativa. Tanto em medicina veterinária como em medicina humana têm-se procurado formas de restabelecer a funcionalidade cardíaca, sendo que a terapia génica, por transferência de genes está na vanguarda da investigação translacional uma vez que há indícios de que permite alterar a distribuição do cálcio e reduzir a apoptose dos cardiomiócitos. Neste sentido múltiplos estudos em animais e humanos estão já em curso.

Palavras-Chave: Cardiologia Veterinária, Cardiomiopatia Dilatada Primária, Testes Genéticos, Terapia Génica

Abstract

Heart diseases are very prevalent in canine population and are responsible for high morbidity and mortality in this specie. This master thesis aims to carry out a bibliographical review regarding the state of the art on dilated cardiomyopathy, focusing on etiology, clinical presentation, diagnosis and therapeutics.

After mitral valve degenerative disease, dilated cardiomyopathy (DCM) is the most common cardiac pathology in veterinary clinical practice and is characterized by dilation of the cardiac chambers, reduction of myocardial contractility, and consequently systolic and diastolic dysfunction. This disease is of slow and progressive evolution, leading to congestive heart failure (CHF) and arrhythmias that can culminate in the death of the animal.

The etiology of DCM is generally unknown, however there are several predisposing factors to its development. Genetic factors represent one of the main causes of this disease, as it has been evidenced in recent years by multiple studies that support and prove its hereditary nature, especially in family lines of Doberman Pinscher breed, classically considered as a model of this pathology. The diagnosis of DCM is based essentially on the use of echocardiography, accompanied by electrocardiography, thoracic radiography and laboratory tests. More recently also nuclear medicine has been applied in this area of veterinary clinics. Its treatment is essentially palliative and aims to control the symptoms of CHF, promote the quality of life of the animal and increase its survival. In DCM are described changes on calcium dynamics and on cardiomyocyte apoptosis rate which justify a guarded prognosis in symptomatic treated animals. There is an intensive investigation in both veterinary and human medicine in order to find more efficacious therapeutic strategies to restore cardiac function. Gene therapy, by gene transfer, is one of the more promising approaches for this disease and has been studied under a translational research point of view. There is evidence that it allows improvement on calcium distribution and reducing of cardiomyocytes apoptosis. In this sense multiple animal and human studies are already under way.

Keywords: Veterinary Cardiology, Primary Dilated Cardiomyopathy, Genetic Tests, Gene Therapy

1. Introdução

As cardiomiopatias inserem-se num grupo heterogêneo de doenças cardíacas que envolvem o miocárdio associadas a disfunções de natureza mecânica e/ou elétrica que conseqüentemente desencadeiam uma dilatação ou uma hipertrofia ventricular (Wess, Domenech, Dukes-McEwan, Häggström, & Gordon, 2017).

No início do século XXI com o desenvolvimento da genética molecular, surgiram novos conceitos fisiopatológicos de algumas doenças cardíacas e houve reconhecimento das canalopatias iônicas como doenças que predispõem a taquiarritmias ventriculares graves (Maron et al., 2006). Assim, em 2006 a American Heart Association introduziu uma nova classificação das cardiomiopatias, que as divide em dois grandes grupos: (1) as cardiomiopatias primárias que envolvem primariamente o coração, subdividindo-se estas em mais três categorias: genéticas, mistas e adquiridas e (2) as cardiomiopatias secundárias, quando existe um envolvimento patológico do miocárdio como parte duma grande diversidade de alterações multiorgânicas (Maron et al., 2006), de que são exemplos as doenças inflamatórias do miocárdio, como a miocardite e a endocardite, a cardiomiopatia hipertensiva, a cardiomiopatia isquêmica e outras formas de insuficiência cardíaca (Maisch, Noutsias, Ruppert, Richter, & Pankuweit, 2012).

Em 2007, um grupo de trabalho em doenças do miocárdio e do pericárdio da Sociedade Europeia de Cardiologia propôs um novo sistema de classificação, agrupando as cardiomiopatias em fenótipos morfológicos e funcionais específicos: cardiomiopatia dilatada (CMD), cardiomiopatia hipertrófica, cardiomiopatia restritiva, cardiomiopatia arritmogénica do ventrículo direito e cardiomiopatia não classificada (Figura 1) (Maisch et al., 2012).

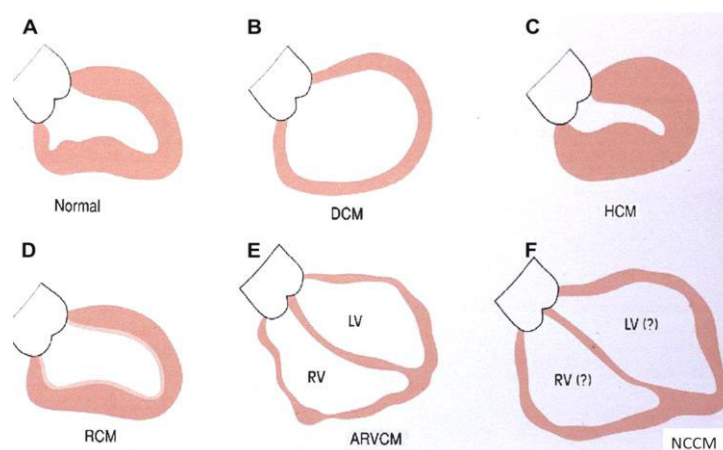


Figura 1 - Esquema da variação morfológica dos vários tipos de cardiomiopatias. A-Coração normal. B-Cardiomiopatia dilatada. C-Cardiomiopatia hipertrófica. D-Cardiomiopatia restritiva. E-Cardiomiopatia arritmogénica do ventrículo direito. F-Cardiomiopatia não classificada. Adaptado de Maisch et al., 2012.

Estas cardiomiopatias são posteriormente divididas em (1) cardiomiopatias familiares ou genéticas, quando a cardiomiopatia ou outra característica fenotípica é atribuível à mesma mutação genética e se ocorrer noutro elemento da família e (2) cardiomiopatias não-familiares, se a condição clínica e lesional não for encontrada noutro elemento da mesma família, sendo então classificadas em idiopáticas ou adquiridas (Elliott et al., 2007). Neste seguimento surge uma nova definição de cardiomiopatia que considera esta anomalia como uma alteração patológica do miocárdio em que este se encontra estrutural e funcionalmente alterado, na ausência de doença coronária, hipertensão, doença valvular e doença cardíaca congénita capazes de provocarem estas modificações observadas no músculo cardíaco (Elliott et al., 2007).

O objetivo do presente trabalho é fazer uma compilação sobre o conhecimento atual da cardiomiopatia dilatada canina, destacando a importância do conhecimento da sua etiologia que irá definir a abordagem clínica e orientação terapêutica.

2. Cardiomiopatia Dilatada Canina

A seguir à degenerescência mixomatosa da válvula mitral, a CMD é a cardiomiopatia mais prevalente na espécie canina (Sisson, O'Grady, & Calvert, 1999), excetuando as regiões endémicas em dirofilariose (O'Grady & O'Sullivan, 2004).

Numa breve perspetiva histórica, em 1970 Ettinger, Bolton e Lord descreveram pela primeira vez a CMD no cão, enquanto insuficiência cardíaca congestiva associada a dilatação das câmaras cardíacas e na ausência de outras doenças cardiovasculares clinicamente importantes (Tidholm & Jönsson, 2005). Sob o ponto de vista da morfofisiologia, esta doença caracteriza-se pela presença de uma dilatação ventricular esquerda ou biventricular, que se inicia com disfunção sistólica e posteriormente também diastólica, na ausência de hipertensão arterial, doenças valvulares e de doença coronária (Pinto et al., 2016). Frequentemente as arritmias supraventriculares e ventriculares são diagnosticadas na evolução desta doença (Stern & Ueda, 2018).

A elevada incidência da CMD em cães da raça Doberman Pinscher e Dogue Alemão explica-se pelo facto de ser uma patologia hereditária muito frequente nestas raças (Stern & Ueda, 2018), onde o carácter familiar é muito vincado, havendo por isso uma forte suspeita da existência de uma base genética (Dukes-McEwan, Borgarelli, Tidholm, Vollmar, & Häggström, 2003). Não obstante, a CMD já foi relatada em cães de outras raças ou dos seus cruzamentos (Tidholm & Jönsson, 2005).

2.1. Etiologia

A etiologia da CMD é, na sua maioria, considerada idiopática, sendo que se reconhece um carácter multifatorial de disfunção miocárdica (Tidholm, Häggström, Borgarelli, & Tarducci, 2001). Distinguem-se ainda as cardiomiopatias primárias, ou também denominadas de hereditárias e as cardiomiopatias secundárias ou adquiridas tendo por base etiológica fatores diversos como défices nutricionais, alterações metabólicas, alterações imunológicas, doenças infecciosas, cardiomiopatias induzidas por fármacos e tóxicos e insuficiência cardíaca induzida pela taquicardia persistente (O'Grady & O'Sullivan, 2004; Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001; Tidholm & Jönsson, 2005).

Cardiomiopatias Hereditárias

A elevada prevalência da CMD em algumas raças caninas e em algumas linhagens familiares específicas sugere que exista uma base genética para esta doença (Simpson et al., 2015). A identificação e compreensão do modo de transmissão hereditária de uma doença familiar é a primeira etapa para um estudo genético (Parker, Meurs, & Ostrander, 2006). Sabendo que diferentes raças podem apresentar modos de transmissão hereditária distintos, os padrões de hereditariedade conhecidos na CMD canina são: autossómico recessivo, recessivo ligado ao cromossoma X e autossómico dominante (Parker et al., 2006; Simpson et al., 2015). No Cão de Água Português foi descrita uma forma juvenil da CMD canina transmitida de forma autossómica recessiva com penetrância completa (Alroy, Rush, & Sarkar, 2005; Dutton & López-Alvarez, 2018; Sleeper et al., 2002). Também em cães da raça Golden Retriever com CMD por deficiência em taurina se suspeita deste modo de transmissão hereditária (Bélanger, Ouellet, Queney, & Moreau, 2005). No caso dos cães da raça Dogue Alemão foi relatado um padrão de transmissão recessivo ligado ao cromossoma X (Dutton & López-Alvarez, 2018; Meurs, Miller, & Wright, 2001), onde apenas machos são afetados, tendo as fêmeas 50% de probabilidade de transmitir a característica aos seus descendentes (Parker et al., 2006). O modo de transmissão hereditária mais frequente é o padrão autossómico dominante (Parker et al., 2006). Exemplo disso são famílias de raça Terra Nova (Wiersma et al., 2008), Doberman Pinscher (Meurs et al., 2007), Boxer e Irish Wolfhound (Distl, Vollmar, Broschk, Hamann, & Fox, 2007).

Alguns dos genes associados com a CMD canina são: o gene da distrofia muscular de Duchenne em Pointer Alemão de pelo curto (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001), o gene piruvato desidrogenase quinase 4 (*PDK4*) (Meurs et al., 2012) e um polimorfismo de nucleótido único no cromossoma 5 (Mausberg et al., 2011) em Doberman Pinscher; o gene *estriatina* (*STRN*) em Boxer (Meurs et al., 2013) e polimorfismos nos cromossomas 1, 10, 15, 17, 21 e 37 em Irish Wolfhound (Philipp, Vollmar, Haggstrom, Thomas, & Distl, 2012) (Simpson et al., 2015).

O conhecimento dos fatores genéticos que predispõem à CMD permite desenvolver estratégias de reprodução seletiva no sentido de reduzir a prevalência desta doença dentro de uma raça de cão, o que aumenta a sua robustez e bem-estar geral. Mas também permite identificar novos métodos terapêuticos e diagnósticos (Simpson et al., 2015).

Esta doença manifesta-se essencialmente em cães de raça grande a gigante, embora também possa surgir em cães de raça média, como o Dálmata e o Cocker Spaniel (O'Grady & O'Sullivan, 2004). Todas as raças caninas têm potencial para desenvolver esta patologia cardíaca, no entanto existem raças que se apresentam particularmente em maior risco de vir a desenvolver CMD, de que são exemplos: o Cão da Terra Nova, o São Bernardo, o Doberman Pinscher, o Dogue Alemão, o Irish Wolfhound, o Boxer, o Cocker Spaniel Inglês e Americano e o Cão de Água Português (Simpson et al., 2015; Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Acrescenta-se a esta lista a presença desta doença numa raça autóctone de importância nacional - o cão da Serra da Estrela (Lobo, Canada, Bussadori, Gomes, & Carvalheira, 2008; Lobo et al., 2012). Tem vindo a ser colocada a hipótese de que cada raça poderá ter uma mutação genética particular (Dutton & López-Alvarez, 2018), condicionando alterações das proteínas estruturais e funcionais cardíacas, levando a apresentações clínicas de formas distintas, tendo por base os diferentes tempos de sobrevida após o diagnóstico, a histopatologia, os padrões de hereditariedade e a idade de aparecimento da doença (Simpson et al., 2015).

O Doberman Pinscher é a raça canina com mais informação relativa à CMD nomeadamente no que diz respeito à etiologia, características da doença, prognóstico e resposta ao tratamento (Stern & Ueda, 2018). Deste modo esta raça é utilizada, muitas vezes, como modelo da doença em cão (Dutton & López-Alvarez, 2018). O Doberman Pinscher foi criado no início do século XIX na Alemanha e sofreu um rápido desenvolvimento num período de 30 anos, tendo sido uma raça reproduzida com alguma consanguinidade o que levou ao aparecimento de um pool genético fechado com baixa diversidade genética (Simpson et al., 2015). Nesta raça o tipo de transmissão hereditária da doença é autossómica dominante com penetrância incompleta (Meurs et al., 2012; Stern & Ueda, 2018). Investigações genéticas levaram à descoberta de mutações associadas à CMD: (1) uma mutação no gene *PKD4* que codifica uma proteína mitocondrial (Meurs et al., 2012), com 37% de penetrância e com impacto na energia celular, um fator chave na função cardíaca. Sabe-se também que os Doberman Pinscher com esta mutação, quer na forma heterozigótica quer na forma homozigótica, têm uma probabilidade 10 vezes superior de desenvolver CMD (Stern & Ueda, 2018); (2) uma mutação designada "DCM2", num gene sarcomérico, com 50% de penetrância quando isolado e 60% de penetrância quando combinado com o gene *PKD4*. Os cães com esta mutação, quer na forma homozigótica quer na forma heterozigótica, estão 21 vezes mais predispostos a desenvolver CMD e quando combinada com uma cópia da mutação do gene *PKD4* estão 30 vezes mais sujeitos a manifestar a doença. Toda esta informação sugere uma evidência de um estado de mutação composto nesta raça (Stern & Ueda, 2018). Destaca-se o facto da localização geográfica desempenhar um papel importante na etiologia genética desta patologia pois um estudo anterior sugere a existência de um terceiro locus genético numa população de Doberman Pinscher no Reino Unido (Mausberg et al., 2011). A existência de

heterogeneidade genética explica o facto de nem todos os cães da raça Doberman Pinscher com CMD apresentarem a mutação do gene *PDK4* (Meurs et al., 2019). Neste sentido Meurs et al., 2019 realizou uma sequenciação completa do genoma de uma família de Doberman Pinscher com CMD e morte súbita sem a mutação do gene *PDK4*. Neste estudo foi demonstrada a identificação de uma mutação do gene *titina* (*TTN*) associada a doença num modelo espontâneo canino de CMD (Meurs et al., 2019). Prevê-se que a mutação deste gene altere a estrutura da proteína e foi demonstrada a diminuição da contração ativa das miofibrilhas em cães afetados (Meurs et al., 2019).

No que diz respeito a outras raças caninas com prevalência significativa desta cardiomiopatia destacam-se também: (1) o Dogue Alemão em que a transmissão hereditária é sugerida por um padrão recessivo ligado ao cromossoma X, no entanto possíveis mutações genéticas ligadas a esta raça não foram ainda identificadas (Dutton & López-Alvarez, 2018; Meurs et al., 2001; Stern & Ueda, 2018); (2) o Boxer que apresenta uma forma particular de cardiomiopatia, em que se verificou a associação da deleção do gene *STRN* com CMD na sua forma homozigótica (Dutton & López-Alvarez, 2018; Meurs et al., 2013); (3) o Irish Wolfhound ao qual está associado um modo oligogénico de transmissão hereditária (Dutton & López-Alvarez, 2018; Simpson et al., 2016; Vollmar et al., 2019); (4) o Cão da Terra Nova com um padrão autossómico dominante com penetrância incompleta, ao qual já foram excluídos 15 possíveis genes candidatos como causa de CMD, encontrando-se ainda por determinar a origem genética da mesma nesta raça (Dutton & López-Alvarez, 2018; Wiersma et al., 2008); (5) o Cão de Água Português ao qual está associado uma transmissão autossómica recessiva e um metabolismo anormal de taurina em animais jovens (Alroy et al., 2005; Dutton & López-Alvarez, 2018; Sleeper et al., 2002) e o (6) Cocker Spaniel no qual não foram realizados estudos genéticos até à data, não havendo certeza de se tratar de uma condição hereditária ou secundária a deficiências nutricionais em taurina e L-carnitina (Dutton & López-Alvarez, 2018).

Cardiomiopatias Adquiridas

As alterações nutricionais que estão na génese da hipocinésia miocárdica foram descritas pela primeira vez em canídeos em meados de 1990 (Freeman, Stern, Fries, Adin, & Rush, 2018; Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001; Tidholm & Jönsson, 2005). As causas nutricionais de CMD, de que são exemplo as deficiências em L-carnitina e taurina, devem ser precocemente detetadas em animais doentes, pois parece haver algum grau de reversibilidade associado à suplementação destes compostos. Sabe-se que os desequilíbrios nutricionais podem promover uma ineficiência no gasto energético miocárdico e proporcionar a exacerbação da CMD (Adin et al., 2019).

A L-carnitina é um derivado de aminoácidos que não é utilizado para a síntese de proteínas, encontrando-se sob a forma livre no organismo (Sanderson, 2006). As suas principais funções estão relacionadas com o funcionamento do metabolismo energético mitocondrial, onde esta molécula é importante no transporte dos ácidos gordos de cadeia longa através da membrana interna da

mitocôndria, permitindo a sua beta-oxidação, sendo esta a principal fonte de energia do miocárdio (Sanderson, 2006; Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Foram demonstradas baixas concentrações de L-carnitina miocárdica em algumas raças caninas com CMD, destacando-se o Boxer, o Doberman Pinscher e o Cocker Spaniel Americano (Davies, 2016; Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Contudo, esta diminuição em L-carnitina não é específica de CMD uma vez que se desconhece se é uma causa ou uma consequência da ICC (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001).

A taurina é o aminoácido livre mais abundante no coração e intervém na regulação do transporte de cálcio através das membranas do tecido nervoso e muscular cardíaco (Sanderson, 2006; Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Um estudo de Kittleson et al., 1997 (“multicenter spaniel trial” - MUST) concluiu que os cães da raça Cocker Spaniel com CMD apresentavam deficiência em taurina e responderam clinicamente à suplementação com taurina e L-carnitina, melhorando a função miocárdica (Kittleson et al., 1997; Sanderson, 2006; Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Recentemente um estudo de Kaplan et al., 2018 descreveu a existência de cães da raça Golden Retriever com deficiência em taurina e CMD e avaliou possíveis associações a dietas específicas. Conclui-se que certas dietas à base de legumes, sem cereais e com fonte de proteína pouco usual como a carne de coelho, veado e javali, estão associadas ao desenvolvimento de deficiência em taurina e que a mudança na dieta e a suplementação neste aminoácido melhora significativamente o estado clínico destes cães (Kaplan et al., 2018). No entanto ainda não é possível estabelecer uma ligação causa-efeito direta. Nesta raça a cardiomiopatia dilatada secundária à deficiência em taurina é provavelmente multifatorial incluindo fatores nutricionais, metabólicos e genéticos (Kaplan et al., 2018). Outro estudo de Adin et al., 2019 demonstrou que cães com CMD alimentados com dieta livre de cereais têm alterações ecocardiográficas mais avançadas do que cães com CMD alimentados com dieta à base de cereais, e quando sujeitos a uma mudança na dieta demonstraram melhoria a nível clínico e ecocardiográfico (Adin et al., 2019). No caso do Cão de Água Português descobriu-se uma correlação entre um carácter genético autossómico recessivo associado à forma juvenil de CMD manifestada nesta raça e concentrações plasmáticas baixas de taurina, sugerindo um metabolismo anormal e o comprometimento da sua biossíntese (Alroy et al., 2005).

Quanto às alterações metabólicas associadas à CMD incluem-se o hipotiroidismo e a diabetes *mellitus*, (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001; Tidholm & Jönsson, 2005). A hormona tiroideia, triiodotironina (T3), regula a expressão de genes que codificam proteínas essenciais para a performance miocárdica, de que são exemplos a Na,K-ATPase, a Ca-ATPase, recetores β -adrenérgicos e cadeias pesadas de miosina (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Neste sentido foi sugerido que o hipotiroidismo poderia desempenhar um papel no desenvolvimento da CMD canina, contudo a quantificação da concentração de T3 não é completamente significativa já que se verifica o efeito dito “sick syndrome eutiroideu”, relacionado com uma diminuição desta hormona em cães com outra patologia sistémica concomitante (Tidholm, Häggström, & Hansson, 2001). O hipotiroidismo e a CMD são duas patologias comuns nos cães da raça Doberman Pinscher (Beier et

al., 2015). O estudo de Beier et al., 2015 avaliou o possível papel do hipotireoidismo na etiologia e progressão da CMD, tendo verificado uma ausência de relação entre estas duas patologias, sendo que o tratamento para o hipotireoidismo não modificou a progressão clínica.

No que respeita à *diabetes mellitus*, o estudo de Nikolaidis et al., 2004 mostrou que a progressão da disfunção ventricular na CMD grave está associado a um aumento da resistência à ação da insulina tanto sistémica como a nível do miocárdio. Esta situação pode culminar numa *diabetes mellitus* tipo II, o que tem consequências energéticas deletérias, pois à medida que a doença evolui aumenta a dependência do miocárdio da adenosina trifosfato (ATP) obtido a partir da glicólise aeróbia, podendo culminar com a depleção energética (Nikolaidis et al., 2004).

Os processos imunológicos estão envolvidos na patogénese da CMD, como foi evidenciado pela presença de autoanticorpos contra diversas estruturas cardíacas como os recetores β -adrenérgicos, a mitocôndria e as cadeias pesadas de miosina (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Contudo estes autoanticorpos não aparentam ser específicos para a CMD dado que estes também são detetados em casos de miocardite, cardiomiopatia hipertrófica e doença cardíaca hipertensiva (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001; Tidholm & Jönsson, 2005).

A resposta inflamatória sistémica contra agentes infecciosos como vírus, bactérias e protozoários parece estar associada à patogénese da miocardite e de CMD (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001; Tidholm & Jönsson, 2005), o que foi sustentado pela identificação de anticorpos anti estruturas bacterianas ou antigénios virais que podem levar a reações citotóxicas no miocárdio (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Há ainda evidência de alguns vírus poderem induzir lesões miocárdicas, como é o caso do parvovírus, do herpes vírus e do vírus da esgana (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001).

Quanto às cardiomiopatias tóxicas, estão descritos fármacos com potencial cardiotoxico, como a doxorrubicina, agentes anti-neoplásicos (Lee, Kang, & Park, 2015), etanol, cobalto, chumbo, catecolaminas, histamina, metilxantinas e vitamina D (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001; Tidholm & Jönsson, 2005). Os fármacos como a doxorrubicina podem causar cardiotoxicidade cumulativa em cão, manifestando-se clinicamente como arritmias e alteração da função sistólica provocando modificações semelhantes às verificadas na CMD (Hallman, Hauck, Williams, Hess, & Suter, 2019). As alterações histopatológicas da cardiotoxicidade crónica irreversível incluem atrofia degenerativa miofibrilar, fibrose e edema intersticial e vacuolização citoplasmática (Hallman et al., 2019; Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). No estudo de Hallman et al., 2019 concluiu-se que quando expostas a tratamento com doxorrubicina, as raças como o Cocker Spaniel Americano, Boxer, Dogue Alemão, Irish Wolfhound, Doberman Pinscher e Cão da Terra Nova, têm uma incidência de cardiotoxicidade mais elevada (15.4%). Deste modo os animais submetidos a esta terapêutica devem ser vigiados relativamente ao aparecimento de complexos ventriculares prematuros (CVP) e à diminuição da fração de encurtamento ventricular, como possíveis sinais de cardiotoxicidade (Hallman et al., 2019).

A insuficiência cardíaca induzida pela taquicardia persistente é entendida numa ótica de exaustão ventricular, sendo que a frequência cardíaca é um dos principais determinantes da função sistólica do ventrículo esquerdo (VE) (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). A taquicardia supraventricular persistente e superior a 200 batimentos por minuto foi relacionada, em múltiplos estudos, com a dilatação das cavidades cardíacas, com áreas de hipocinesia reversível nos átrios e nos ventrículos e com o aparecimento da ICC (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). No que respeita à taquicardia ventricular esta tem repercussões mais graves no tamanho do VE em diástole e na fração de ejeção ventricular (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Verifica-se ainda a diminuição do AMPc, alterações da distribuição do cálcio e aumento das concentrações da noradrenalina no VE (Tidholm, Häggström, Borgarelli, et al., 2001). Estas alterações do ritmo cardíaco podem levar à ICC em que as mudanças fisiopatológicas, estruturais e moleculares da CMD são possíveis de serem reproduzidas experimentalmente com recurso a modelos animais (Powers & Recchia, 2018).

2.2. Fisiopatologia

A CMD canina caracteriza-se pela dilatação de ambos os átrios e ventrículos, disfunção sistólica e diastólica e redução da fração de ejeção ventricular, que clinicamente se manifesta em ICC (Borgarelli, Tarducci, Tidholm, & Häggström, 2001).

A ICC é uma síndrome clínica sistémica em que há inadequado fornecimento de sangue aos tecidos periféricos para suprir as suas necessidades metabólicas (Estrada & Maisenbacher, 2014). No sentido de ultrapassar esta alteração desencadeia-se um aumento da pressão de enchimento das câmaras cardíacas na tentativa de aumentar o débito cardíaco (McEwan, 2000). No entanto o que se verifica é uma diminuição do débito cardíaco e um aumento da resistência vascular periférica com conseqüente diminuição da perfusão (Estrada & Maisenbacher, 2014).

Na base da ICC estão mecanismos neuro-endócrinos e hormonais condicionantes de uma cascata de eventos no sistema cardiovascular, onde se destacam: o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRA(A)), o sistema nervoso autónomo, simpático e parassimpático, a produção de endotelinas e da hormona antidiurética (vasopressina) (Borgarelli et al., 2001). O SRA(A) é constituído por um conjunto de peptídeos, hormonas e recetores periféricos e viscerais em diferentes órgãos que controlam o líquido extracelular, intravascular e a pressão arterial de forma a manter a homeostasia do organismo (Borgarelli et al., 2001). Quando existe um débito cardíaco reduzido há, por um lado diminuição da perfusão renal o que estimula os recetores β -adrenérgicos renais a produzirem renina, e por outro o aumento da concentração da renina circulante que converte o angiotensinogénio, produzido no fígado, em angiotensina I (McEwan, 2000). Por sua vez, sob a ação da enzima de conversão da angiotensina (ECA), a angiotensina I é convertida em angiotensina II (McEwan, 2000). A

angiotensina II é um potente vasoconstritor arterial, aumenta a sede por ação central e estimula o córtex da suprarrenal a produzir aldosterona (McEwan, 2000). A aldosterona atua no túbulo contornado distal do nefrônio e leva à retenção de sódio e água e também tem uma ação direta nos recetores dos mineralocorticóides (A. R. Palomar, Bravo, Mancera, & Mucha, 2016). Com base no estudo de Palomar, Rodriguez Bravo, Villa Mancera, & Mucha, 2016, foram identificados dois tipos diferentes de recetores da aldosterona, que se distribuem de forma heterogénea e predominantemente no átrio direito e VE. Na CMD canina há um aumento do número destes recetores em todas as câmaras cardíacas (Palomar et al., 2016). O aumento crónico da aldosterona bem como da angiotensina II exercem um efeito deletério no miocárdio que resulta na sua remodelação e fibrose (McEwan, 2000; A. Palomar, Mena-Aguilar, Cruz-García, Pastelín-Rojas, & Villa-Mancera, 2017). Na base histopatológica da fibrose cardíaca induzida pelo efeito da aldosterona estão mecanismos de proliferação atípica dos cardiomiócitos, dos fibroblastos e inflamação perivascular intensa (A. Palomar et al., 2017).

A baixa perfusão periférica condiciona os barorreceptores que levam à ativação do sistema nervoso autónomo simpático através da estimulação dos recetores β 1-adrenérgicos e à supressão do sistema nervoso autónomo parassimpático (McEwan, 2000). Esta condição traduz-se num aumento da frequência cardíaca com diminuição da perfusão das artérias coronárias e num estímulo para os recetores α 1-adrenérgicos no musculo liso das artérias, com conseqüente vasoconstrição periférica (Borgarelli et al., 2001).

Em suma, na CMD existem grandes quantidades de recetores miocárdicos para a aldosterona e em aumento das catecolaminas (noradrenalina) em circulação o que, em conjunto, determinam um estado hipertensivo devido ao aumento do volume plasmático por retenção de sódio e água, à vasoconstrição periférica, ao aumento da contratilidade miocárdica (efeito inotrópico positivo) e ao aumento da frequência cardíaca (efeito cronotrópico positivo) (Borgarelli et al., 2001). Assim sendo há um aumento do consumo de oxigénio pelos cardiomiócitos e um acréscimo do trabalho cardíaco, com conseqüente aumento da apoptose celular e fibrose miocárdica irreversível (McEwan, 2000).

2.3. Progressão e Apresentação Clínica da Doença

A evolução natural desta doença pode ser descrita em três fases distintas (O'Grady & O'Sullivan, 2004). A primeira fase é caracterizada por um coração morfológicamente e eletricamente normal, sem evidência de sinais clínicos de doença cardíaca (O'Grady & O'Sullivan, 2004). Na segunda fase há alterações morfológicas e elétricas cardíacas, mas sem sinais clínicos e é designada de fase oculta, assintomática ou pré-clínica da doença (Dukes-McEwan et al., 2003). Nesta fase as principais alterações detetadas são a presença de CVP no eletrocardiograma e a dilatação do VE no ecocardiograma (O'Grady & O'Sullivan, 2004). A terceira fase ou fase sintomática é caracterizada pela presença de sinais clínicos de ICC (O'Grady & O'Sullivan, 2004).

A progressão da doença desde a fase subclínica até ao aparecimento dos sintomas é muito variável no tempo e dependente da raça (Dukes-McEwan et al., 2003). A idade média de deteção da CMD na fase oculta é entre os 5 e os 7 anos, estando alguns animais afetados a partir dos 2 anos de idade (Wess et al., 2017). A avaliação de rotina nos cães de raças com predisposição para CMD deve iniciar-se por volta dos 3 a 4 anos de idade, repetindo-se anualmente em animais reprodutores e uma vez a cada dois anos em raças de cão não predispostas (Wess et al., 2017).

As manifestações clínicas aparecem geralmente em fases avançadas da doença, quer de forma aguda, quer de forma progressiva (O'Grady & O'Sullivan, 2004). A avaliação clínica destes animais deve iniciar-se com uma anamnese rigorosa, seguida de um exame físico exaustivo e sistematizado (Dukes-McEwan et al., 2003). Os principais motivos de consulta dos doentes com CMD são a intolerância ao exercício, a anorexia, a letargia, a perda de peso, a síncope, a tosse e a polidipsia (Dukes-McEwan et al., 2003).

Num animal com insuficiência cardíaca esquerda, o exame físico pode evidenciar alterações respiratórias como dispneia, taquipneia, estertores, crepitações e aumento dos sons respiratórios (Estrada & Maisenbacher, 2014); e alterações cardíacas como taquicardia, arritmia e, em alguns cães, sopro sistólico de intensidade baixa a moderada (grau I-III / VI) causado por regurgitação mitral secundária a dilatação do anel valvular (Dukes-McEwan et al., 2003; Estrada & Maisenbacher, 2014). Em fases mais avançadas da doença sintomática também poderão ser detetados sons de galope diastólico ou um terceiro som cardíaco audível (S3), com origem no aumento de pressão de enchimento do VE ou pela presença de arritmias (Estrada & Maisenbacher, 2014); pulso arterial femoral e pulsos periféricos fracos, ascite, distensão das veias jugulares, membranas mucosas pálidas, perda muscular (caquexia cardíaca) e, por vezes, aumento da temperatura corporal (Dukes-McEwan et al., 2003).

Como anteriormente referido as várias raças caninas com predisposição para a patologia manifestam-se clinicamente de maneira diferente (O'Grady & O'Sullivan, 2004). O Boxer e o Doberman Pinscher podem apresentar-se com síncope e morte súbita cardíaca devido à maior prevalência de arritmias ventriculares nestas raças (O'Grady & O'Sullivan, 2004). A morte súbita cardíaca resulta de taquicardia ventricular paroxística que evolui para fibrilhação ventricular, sendo esta o primeiro sinal clínico de CMD em aproximadamente 30% dos cães (O'Grady & O'Sullivan, 2004).

3. Exames Complementares de Diagnóstico

O diagnóstico de CMD é de exclusão com outras doenças cardíacas, pulmonares ou sistémicas, que fisiopatologicamente se comportam da mesma forma (Dukes-McEwan et al., 2003). O exame físico dos animais doentes deve ser sempre complementado com análises clínicas laboratoriais, eletrocardiografia, ecocardiografia, radiografia torácica, exame anatomopatológico e, mais recentemente, com novas técnicas diagnósticas de que os testes genéticos e os exames imagiológicos

de medicina nuclear são exemplo (Estrada & Maisenbacher, 2014; Santos et al., 2015; Stern & Meurs, 2017).

3.1. Análises Clínicas Laboratoriais

As análises laboratoriais convencionais realizadas na prática clínica aos animais com suspeita de CMD compreendem uma avaliação inicial de exames de hematologia e de bioquímica sérica (Dukes-McEwan et al., 2003) e sequencialmente permitem avaliar a resposta ao tratamento implementado (Sisson et al., 1999). Na maioria dos casos as análises laboratoriais de rotina encontram-se sem alterações, e quando estão presentes refletem os efeitos do débito cardíaco diminuído, da congestão sistêmica e da ativação neuro-hormonal no organismo (Dukes-McEwan et al., 2003). O hemograma pode apenas mostrar uma linfopenia moderada e, eventualmente, uma neutropenia ligeira (Sisson et al., 1999). As alterações bioquímicas séricas incluem um aumento moderado da fosfatase alcalina, frequentemente sem aumento da alanina aminotransferase e do aspartato aminotransferase, bem como uma discreta redução nas imunoglobulinas e com a albumina sérica normal ou ligeiramente diminuída (Sisson et al., 1999). Em casos de ICC grave poderá observar-se hipercalemia e hiponatremia (Sisson et al., 1999). Os valores sanguíneos de ureia podem estar aumentados como possível sinal de azotemia pré-renal consequente ao débito cardíaco diminuído (Dukes-McEwan et al., 2003). O doseamento da taurina sérica é aconselhável ser feito nos casos de suspeita de deficiências nutricionais em cães de raça Cocker Spaniel ou Golden Retriever (Sisson et al., 1999).

O diagnóstico de CMD assenta na evidência de arritmias ventriculares detetadas pelo exame eletrocardiográfico em ambulatório durante 24 horas (*Holter*) e da avaliação ecocardiográfica dos sinais de disfunção do VE (Oyama, Sisson, & Solter, 2007; Wess, Simak, Mahling, & Hartmann, 2010). Contudo estes exames são dispendiosos e têm de ser executados por um técnico especializado, pelo que se tornou apelativa a possibilidade de utilização de um teste sanguíneo minimamente invasivo, fiável, barato e de fácil execução para detetar a CMD em animais assintomáticos (Oyama et al., 2007; Wess et al., 2010). Estes novos exames de diagnóstico laboratorial incluem os biomarcadores cardíacos, que são substâncias biológicas produzidas pelos miócitos lesados submetidos a stress cardíaco (Stern & Meurs, 2017). O peptídeo natriurético atrial (ANP), peptídeo natriurético tipo B (BNP) e a troponina cardíaca I (cTn-I) são biomarcadores com importância na avaliação de doença cardíaca no cão (Stern & Meurs, 2017).

O ANP é um peptídeo libertado, fisiologicamente, em resposta ao estiramento e ao aumento da pressão atrial (Stern & Meurs, 2017), que segundo o estudo de O'Sullivan, O'Grady, & Minors, 2007 demonstrou estar significativamente aumentado tanto na fase assintomática da CMD como na fase clínica nos cães da raça Doberman Pinscher. Adicionalmente outro estudo de Oyama, Sisson, & Solter, 2007 concluiu que num grupo de cães de várias raças com CMD, este peptídeo natriurético não era

específico nem suficientemente sensível para ser utilizado como ferramenta de detecção de animais na fase pré-clínica da doença.

A procura de biomarcadores mais sensíveis deu lugar à utilização do BNP que é secretado principalmente nos ventrículos em resposta à sobrecarga de volume ou de pressão (Oyama et al., 2007). O BNP e o seu fragmento N-terminal da pró-hormona BNP (NT-proBNP) são produzidos em resposta à dilatação, hipertrofia ou aumento de tensão na parede do miocárdio ventricular, estando os seus níveis em circulação aumentados em múltiplas doenças cardíacas incluindo na CMD (Estrada & Maisenbacher, 2014; Stern & Meurs, 2017). Segundo Defrancesco et al., 2007 os níveis de BNP estão aumentados em cães com ICC e podem ser usados no diagnóstico diferencial entre patologia cardíaca ou patologia pulmonar em cães que manifestem tosse ou dispneia (Estrada & Maisenbacher, 2014; Stern & Meurs, 2017). Com base noutro estudo de Gerhard Wess, Butz, Mahling, & Stat, 2011, numa população específica de cães em risco de desenvolver CMD, como o Doberman Pinscher, a quantificação da concentração de NT-proBNP pode ser útil em testes de rastreio, tendo-se verificado nestes cães concentrações plasmáticas elevadas de NT-proBNP, cerca de 1.5 anos antes de serem clinicamente sintomáticos (Stern & Meurs, 2017; Wess et al., 2011). Neste sentido este biomarcador parece ter importância na distinção das várias fases da doença, incluindo a fase pré-clínica, onde os meios de diagnóstico convencionais não são conclusivos (Singletary, Morris, Lynne O'Sullivan, Gordon, & Oyama, 2012; Stern & Meurs, 2017; Wess et al., 2011).

As troponinas cardíacas são proteínas intracelulares consideradas marcadores de isquémia do miocárdio e de necrose celular (Oyama & Sisson, 2004). A cTn-I pertence à estrutura filamentosa do sarcómero cardíaco e é libertada em resultado da necrose ou lesão dos miócitos (Oyama et al., 2007). Nesta perspetiva os níveis plasmáticos de cTn-I estão aumentados em Doberman Pinscher com CMD sintomática (Oyama & Sisson, 2004; Stern & Meurs, 2017). Na fase assintomática da patologia também foram observados níveis plasmáticos de cTn-I aumentados, no entanto estes níveis apresentam falta de sensibilidade e especificidade para serem usados como marcadores da CMD oculta (Oyama et al., 2007; Stern & Meurs, 2017). Ensaio de alta sensibilidade para cTn-I foram disponibilizados recentemente, tais como o estudo de Klüser, Maier, & Wess, 2019 onde foi possível detetar mais precocemente o aumento da concentração de cTn-I comparativamente com as medições convencionais da mesma. Deste modo a deteção de uma mínima lesão miocárdica no estadio inicial da doença cardíaca é agora possível (Klüser et al., 2019). Com base nos resultados do estudo de Klüser et al., 2019 mostrou-se que a cTn-I de alta sensibilidade pode ser utilizada como teste adicional, para diagnosticar a CMD precocemente e com grande potencial.

Mais estudos serão necessários para validar a utilização dos biomarcadores no diagnóstico da fase oculta da patologia, instituição terapêutica adequada, estabelecimento de um prognóstico, estabelecer um valor preditivo de eventos como a síncope e a morte súbita cardíaca e como forma de despiste da CMD em populações caninas para reprodução (Wess et al., 2010).

3.2. Eletrocardiografia

O exame eletrocardiográfico (ECG) tem um valor diagnóstico para a CMD canina limitado, no entanto é um procedimento essencial para a avaliação das arritmias (Dukes-McEwan et al., 2003). A maioria dos cães com CMD tem alterações no traçado eletrocardiográfico como sejam a presença de arritmias e variação na amplitude e duração da onda P ou do complexo QRS, indicativo de dilatação das câmaras cardíacas ou de distúrbios na condução (Dukes-McEwan et al., 2003). A fibrilhação auricular (FA) é a alteração de ritmo cardíaco mais comum em cães com esta patologia (Dukes-McEwan et al., 2003). No estudo de Ward, Ware, & Viall, 2019 conclui-se que os cães com FA têm mais probabilidade de desenvolver IC de predomínio direito, onde são frequentes as efusões pleurais, pericárdicas e ascite. No Boxer e Doberman Pinscher, os CVP e a taquicardia ventricular são achados eletrocardiográficos frequentes (Dukes-McEwan et al., 2003). A realização do ECG em repouso deve ser seguida de um exame eletrocardiográfico em 24 horas de carácter ambulatorio (*Holter*), principalmente quando houver mais do que um CVP a cada 5 minutos, o que sugere que serão registados mais de 100 CVP num exame de 24 horas (Wess et al., 2017). O uso rotineiro do *Holter* permitiu conhecer melhor a prevalência real de arritmias em cães com CMD (Dukes-McEwan et al., 2003). Este exame é um método não invasivo, prático e eficiente de avaliar o ritmo cardíaco por um período prolongado que pode ir das 24 às 48 horas (Sisson et al., 1999), e é fundamental na avaliação de cães de raças com maior risco de desenvolver CMD (Stern & Ueda, 2018). O *Holter* tem maior sensibilidade que o ECG para detetar arritmias supraventriculares ou ventriculares (Simpson et al., 2015), mas ambos são importantes para relacionarem os eventos clínicos com o ritmo cardíaco (Lobo & Pereira, 2002). As recomendações atuais para a interpretação dum exame de *Holter* com base nas normas de rastreio de CMD para Doberman Pinscher, segundo a Sociedade Europeia de Cardiologia Veterinária (Wess et al., 2017), são: o registo de menos de 50 CVP em 24 horas é considerado normal nesta raça, contudo a deteção de qualquer número de CVP é preocupante (Wess et al., 2017); mais de 300 CVP em 24 horas ou duas leituras subsequentes no espaço de um ano, detetando 50 a 300 CVP em 24 horas é considerado diagnóstico de CMD oculta, independentemente dos achados ecocardiográficos (Wess et al., 2017).

3.3. Ecocardiografia

O exame ecocardiográfico é o *gold standard* no diagnóstico de CMD, permitindo avaliar as alterações morfológicas e funcionais cardíacas que estão na base da disfunção miocárdica, tendo assim grande importância na fase oculta da doença (Stern & Meurs, 2017). Nos animais na fase sintomática, o exame bidimensional e em modo M, mostram predomínio da dilatação ventricular e atrial esquerda e por vezes também dilatação das cavidades cardíacas direitas (Stern & Meurs, 2017) e disfunção sistólica (Stern & Ueda, 2018). O ecocardiograma com recurso a Doppler permite excluir

outras doenças cardíacas congênitas ou adquiridas (Dukes-McEwan et al., 2003) que também se manifestam com disfunção sistólica e sobrecarga de volume, de que são exemplos o ducto arterioso persistente, defeito do septo ventricular, displasia da válvula mitral ou degenerescência mixomatosa da válvula mitral (Wess et al., 2017).

O diagnóstico em animais na fase oculta da doença poderá ser mais complexo, neste sentido, em 2003, uma *taskforce* da Sociedade Europeia de Cardiologia Veterinária propôs um sistema de pontuação, com critérios *major* e *minor*, para o diagnóstico da CMD (Dukes-McEwan et al., 2003). Os critérios *major* apresentados são: (1) as dimensões avaliadas em modo M do VE em sístole e diástole, que excedam 95% de intervalos de confiança dos valores de referência previstos para o animal examinado, tendo em consideração a área de superfície corporal, o sexo e a idade nos valores de referência específicos para cada raça; (2) o aumento da esfericidade do VE, determinado pelo índice obtido pelo rácio entre o comprimento do VE em diástole (avaliado em vista de quatro câmaras) e a dimensão do VE em diástole determinada em modo M, se menor que 1.65 é sugestivo do seu aumento; (3) fração de encurtamento ventricular que deve ser menor que 20% ou 25%, dependendo da raça em estudo, ou uma fração de ejeção menor que 40% (Dukes-McEwan et al., 2003). Os critérios *minor* para diagnóstico de DCM propostos são: (1) presença de arritmia numa raça em que esta arritmia específica esteja fortemente relacionada com a CMD, como é o caso do aumento de extrassístoles ventriculares em Doberman Pinscher ou Boxer com o envelhecimento; (2) fibrilhação auricular; (3) aumento da distância do ponto E da válvula mitral ao septo interventricular em modo M; (4) rácio entre período de pré-ejeção e tempo de ejeção aumentado acima de 95% de intervalos de confiança; (5) fração de encurtamento discutível, dependente das referências específicas de raça; (6) dilatação do átrio esquerdo ou biatrial (Dukes-McEwan et al., 2003). Cada critério *major* soma 3 pontos e cada critério *minor* soma 1 ponto, sendo que uma pontuação total de 6 ou mais é diagnóstica de CMD em cão (Dukes-McEwan et al., 2003). Em animais com suspeita clínica e que com estes critérios têm uma pontuação total inferior a 6 são imperativas avaliações seriadas para pesquisar possíveis evidências de progressão da doença (Dukes-McEwan et al., 2003).

3.4. Radiografia

O exame radiográfico torácico permite a avaliação da silhueta cardíaca, a presença e gravidade de edema pulmonar e a existência de efusão pleural (Sisson et al., 1999). A cardiomegália é o achado radiográfico mais comum em raças grandes e gigantes, mas também no Cocker Spaniel (Dukes-McEwan et al., 2003). No caso do Doberman Pinscher e Boxer a cardiomegália não é tão marcada, sendo no entanto frequentes os sinais de dilatação atrial esquerda e edema pulmonar (Sisson et al., 1999). O tamanho do coração não serve para avaliar a severidade da insuficiência cardíaca pois não existe relação direta entre este parâmetro e os sinais clínicos (Lobo & Pereira, 2002; Sisson et al., 1999).

3.5. Diagnóstico Anatomopatológico

O exame anatomopatológico *post mortem* do coração de cães com CMD geralmente apresenta características macroscópicas como a dilatação marcada das quatro câmaras cardíacas, mais especificamente uma hipertrofia miocárdica excêntrica ou predominantemente das câmaras cardíacas do lado esquerdo (Dukes-McEwan et al., 2003; Tidholm & Jönsson, 2005). Este tipo de hipertrofia, mais do que uma verdadeira dilatação, é evidente pelo aumento do rácio entre o peso cardíaco e o peso corporal e pela diminuição do rácio entre a espessura da parede ventricular e o diâmetro da câmara ventricular (Dukes-McEwan et al., 2003; Tidholm & Jönsson, 2005).

Na bibliografia estão descritas duas formas histológicas distintas da CMD canina: o tipo de “fibras em ondas atenuadas” característica de raças grandes, gigantes e de porte médio; e o tipo histológico de “infiltração lipídica degenerativa” detetada com frequência em cães da raça Boxer e Doberman Pinscher (Dukes-McEwan et al., 2003; Tidholm & Jönsson, 2005).

A classificação e caracterização desta patologia em formas histológicas diferentes não tem, *a priori*, relevância clínica, no entanto apresentam uma grande importância científica, aumentando o conhecimento de possíveis fatores etiológicos e da patogénese da CMD canina (Dukes-McEwan et al., 2003).

3.6. Outras Técnicas Diagnósticas

No que diz respeito às inovações na abordagem da CMD, vários estudos sugerem o uso de novas tecnologias, que poderão ser úteis para o diagnóstico precoce destas doenças cardíacas, permitindo a terapêutica ajustada na fase subclínica da doença, aumentando assim o tempo de sobrevivência sem sintomas de IC (O’Grady & O’Sullivan, 2004).

Os testes genéticos já disponíveis, nomeadamente a pesquisa da mutação do gene *PDK4*, poderão ser úteis para a identificação de cães da raça Doberman Pinscher em risco de desenvolver CMD (Wess et al., 2017). Os resultados iniciais demonstraram que todos os animais com esta alteração eram quer homocigóticos quer heterocigóticos para a mutação (Estrada & Maisenbacher, 2014). No entanto alguns cães com positividade genética da mutação do gene *PDK4* não tinham evidência da doença, seja clínica ou nos exames complementares de diagnóstico no momento do exame, o que poderá refletir o atraso no despoletar da doença ou uma baixa penetrância genética (Estrada & Maisenbacher, 2014). No estudo de Owczarek-Lipska et al., 2012, a alteração do gene *PDK4* numa população de Doberman Pinscher de origem americana não corresponde com uma população da mesma raça de origem europeia, o que evidencia variabilidade geográfica da prevalência da mutação. A identificação da mutação não determina o diagnóstico de CMD, mas deve ser o ponto de partida para

uma vigilância assídua (Wess et al., 2017). O valor real deste teste genético deverá ser tido em consideração quando se tratam de animais inseridos em programas de reprodução (Wess et al., 2017).

Os exames imagiológicos permitem o estudo de aspetos particulares na IC como: o tamanho das câmaras cardíacas, a forma, a função cardíaca global e a espessura da parede, a função miocárdica local, a perfusão miocárdica e atividade metabólica, a estrutura de fibras miocárdicas e a captação de cálcio no miocárdio (Santos et al., 2015). No que diz respeito aos exames de medicina nuclear estes poderão ser úteis no diagnóstico da CMD para complementar os achados ecocardiográficos, como a cintigrafia de perfusão miocárdica com recurso a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) que quando efetuado sob stress cardíaco (administração de dobutamina) pode identificar zonas de dissincronia intraventricular com impacto hemodinâmico, nomeadamente alterações na fração de ejeção cardíaca o que vai condicionar o aparecimento de ICC (Salimian, Thibault, Finnerty, & Gre, 2015). Também a tomografia de emissão de positrões (PET) é um exame importante na cardiologia veterinária clínica que permite avaliar a atividade metabólica celular e o fluxo sanguíneo no miocárdio (Santos et al., 2015). A ressonância magnética nuclear (RMN) permite obter imagens das estruturas cardíacas com maior resolução (Santos et al., 2015). Estes exames ainda não fazem parte da prática médica veterinária de rotina devido à sua complexidade.

4. Tratamento

Terapia Clássica

O tratamento da cardiomiopatia dilatada é fundamentalmente sintomático e tem como objetivo aliviar os sintomas de ICC, aumentar a qualidade de vida do animal e diminuir a mortalidade (McEwan, 2000). A abordagem terapêutica da CMD varia de acordo com a fase em que se encontra, dito de outra forma, as fases pré-clínica também denominada de oculta ou assintomática e a fase clínica ou sintomática devem ser pensadas e monitorizadas pelo médico veterinário de forma distinta.

Na sua fase oculta, é fundamental para modificar a inevitável progressão da doença, pelo que é de todo vantajoso identificar os fatores precipitantes da evolução para ICC, sendo que o principal desencadeador é o desenvolvimento de arritmias supraventriculares ou ventriculares (O'Grady & O'Sullivan, 2004). Em casos de animais com estas ou outras arritmias, os medicamentos antiarrítmicos, como é o caso da amiodarona e do sotalol, podem ser administrados quando se evidenciam CVP frequentes, contudo não existem estudos que sustentem o seu uso para diminuir a incidência de morte súbita cardiogénica (O'Grady & O'Sullivan, 2004). Os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECAs) podem ter algum benefício numa fase precoce da dilatação ventricular esquerda, com ou sem disfunção sistólica (Stern & Meurs, 2017). Nos Doberman Pinscher com dilatação ventricular e tratados com IECAs houve um prolongamento da fase oculta da doença e embora noutras

raças não tenha sido fundamentado este efeito, estes medicamentos devem ser administrados a todos os cães em fase assintomática da doença (Stern & Meurs, 2017). O papel dos beta bloqueantes, como o carvedilol, e dos antagonistas da aldosterona, de que é exemplo a espironolactona, nesta fase da doença não está estabelecido, pelo que só devem ser administrados sob monitorização clínica frequente (Stern & Meurs, 2017). A administração do pimobendan, que é um fármaco inibidor da fosfodiesterase III, sensibilizador de cálcio e com efeito inotrópico positivo e vasodilatador (Boyle & Leech, 2012), deve ser iniciada na fase pré-clínica de CMD, o que foi comprovado para Doberman Pinscher no estudo Summerfield et al., 2012, sendo assim recomendado o seu uso em todos os cães na mesma situação clínica (Stern & Meurs, 2017).

Na fase clínica da CMD o objetivo é melhorar a contratilidade cardíaca, de forma a otimizar a fração de ejeção ventricular, bem como tratar a congestão, diminuir o edema pulmonar, a ascite e a efusão pleural (Stern & Meurs, 2017). Neste sentido devem ser usados fármacos com efeito inotrópico positivo, como é o caso do pimobendan. Também está indicado o uso de IECAs, de que é exemplo o enalapril e o benazepril, que modelam a ativação neuroendócrina presente na insuficiência cardíaca (Stern & Meurs, 2017). Para controlar a congestão é imperativo o uso de diuréticos, que podem ser de ansa como a furosemida, e antagonista da aldosterona - espironolactona. Na presença de arritmias, quando há fibrilhação auricular, está indicado o uso de digoxina que estabiliza a frequência cardíaca, mas se estiverem presentes extrassístoles ventriculares deverão ser usados beta-bloqueantes, de que é exemplo o carvedilol, e/ou antagonistas do cálcio, como por exemplo o diltiazem e amiodarona (McEwan, 2000).

A morte súbita cardiogénica é comum, especialmente em Doberman Pinscher, e embora não haja consenso nem estudos que suportem quando e como tratar as arritmias ventriculares nos cães com CMD, perante a existência de taquicardia ventricular, arritmia ventricular complexa ou combinação de arritmias ventriculares, bem como na presença de dilatação ventricular e disfunção sistólica, está indicado iniciar a terapêutica adequada (Stern & Meurs, 2017).

Independentemente da fase da doença, é sensato adicionar medidas coadjuvantes da estabilidade da função cardíaca como uma dieta baixa em sódio, restrição de exercício intenso, suplementação nutricional com L-carnitina, taurina, óleo de peixe (ácidos gordos ómega 3), magnésio, coenzima Q 10 e vitamina E (McEwan, 2000; O'Grady & O'Sullivan, 2004).

Novas Abordagens Terapêuticas

A terapia convencional diminui a sintomatologia de ICC e das arritmias, retardando a falência cardíaca, mas não impede a sua evolução para IC terminal (Paradies et al., 2019). A medicina humana aborda a fase terminal da IC com uma opção cirúrgica que em medicina veterinária ainda não está disponível - o transplante cardíaco (Paradies et al., 2019). Em Medicina Veterinária o transplante cardíaco e outras técnicas de assistência cardíaca, de que são exemplos os ressincronizadores do miocárdio e os cardio desfibriladores implantados, não estão geralmente disponíveis para os doentes (Simpson et al., 2015). Os últimos anos de pesquisa incidiram nas estratégias terapêuticas baseadas na biotecnologia, como é o caso da terapêutica celular e gênica, que atuam diretamente nas células miocárdicas, impedindo a sua degenerescência, em vez de tratar os sintomas da IC (Paradies et al., 2019). Múltiplas técnicas já foram descritas para a transferência de genes para o miocárdio que se classificam segundo o local de injeção, a abordagem intervencional e as variações da circulação cardíaca (Sleeper, 2017). A transferência gênica poderá ser realizada quando a mutação que está na origem da doença é desconhecida ou quando se trata de uma patologia adquirida, tendo como objetivo aumentar a concentração de um produto gênico terapêutico num tecido ou órgão, onde poderá ter um efeito semelhante a fármacos (Sleeper, 2017). Na insuficiência cardíaca existe uma redução na atividade cíclica do cálcio devido à diminuição da expressão da bomba de cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA2a), bem como um desequilíbrio na fosforilação do recetor de rianodina (mediador da libertação do cálcio) devido a uma expressão anormal das proteínas reguladoras, as quais podem ser alvo de terapia gênica (Sleeper, 2017). Outras proteínas alvo podem ser as reguladoras do sistema β -adrenérgico, da apoptose celular e do equilíbrio do substrato energético celular (Sleeper, 2017).

Entre os fatores cardioprotetores foi estudado o fator de crescimento do endotélio vascular - B (VEGF-B) que tem ação citoprotetora e anti-apoptótica, sem efeito pro-angiogénico (Paradies et al., 2019). Estas propriedades são fundamentais na abordagem genética da CMD não isquémica, em que a apoptose parece ter um papel predominante (Paradies et al., 2019). Em estudos experimentais pré-clínicos foi possível reverter a IC através da utilização da isoforma VEGF-B₁₆₇ transportado num vetor viral, o adenovírus serotipo 9 (AAV-9) (Figura 2 - Terapia gênica com recurso ao vetor viral adenovírus) (Paradies et al., 2019; Sleeper, 2017). Esta terapêutica foi inicialmente administrada por injeção intracardíaca direta e posteriormente por infusão intracoronária (Paradies et al., 2019). Não existem ainda dados conclusivos da viabilidade e eficácia de terapias gênicas citoprotetoras em animais com CMD naturalmente adquirida sintomática (Paradies et al., 2019). Deste modo são necessários mais estudos pré-clínicos para que esta técnica terapêutica invasiva seja viável na prática clínica diária (Paradies et al., 2019).

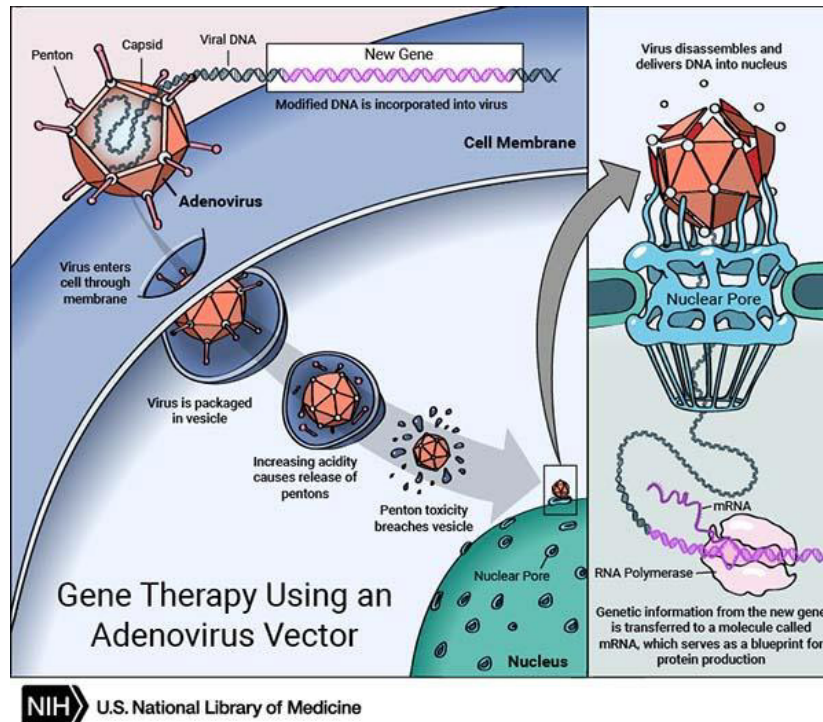


Figura 2 - Terapia gênica com recurso ao vetor viral adenovírus. Adaptado de <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/therapy/procedures>

5. Prognóstico

O prognóstico a longo prazo dos animais afetados pela CMD é reservado, no entanto depende de múltiplas variáveis como a raça, os fatores etiológicos, as doenças concomitantes, a idade do animal na altura do diagnóstico, a gravidade da doença e a qualidade da assistência médica veterinária (Estrada & Maisenbacher, 2014). É importante o diagnóstico precoce da doença, nomeadamente na fase assintomática onde devem ser instituídas medidas terapêuticas que retardem a evolução da doença e o aparecimento de sintomas de ICC (O'Grady & O'Sullivan, 2004). Nos cães diagnosticados com CMD na fase oculta a sobrevida média pode ir de 2 a 4 anos antes do aparecimento dos sintomas (Estrada & Maisenbacher, 2014). Após o aparecimento de ICC o tempo de sobrevida fica limitado de 6 a 12 meses, embora tenha melhorado substancialmente nos últimos anos com o uso dos IECAs e do pimobendan (Estrada & Maisenbacher, 2014). Quanto à idade de diagnóstico quanto mais jovem for o animal e mais graves forem os seus sintomas clínicos pior será o seu prognóstico (Ware, 2007).

A identificação de fatores de prognóstico no cão na fase oculta da CMD tem implicações importantes nas tomadas de decisões e intervenções terapêuticas (O'Grady & O'Sullivan, 2004). A determinação de biomarcadores como a cTn-I e NT-proBNP são importantes na abordagem da CMD na prática clínica (Oyama, 2015). A proteína de ligação a ácidos gordos específicos do miocárdio é um novo biomarcador que é promissor, como indicador precoce da doença, da resposta à terapêutica e também da determinação do prognóstico (Lam, Casamian-sorrosal, Monteith, & Fonfara, 2019).

A morte súbita cardiogénica é um evento importante na história natural da CMD (Kluser et al., 2016). Segundo o estudo de Kluser et al., 2016 entre os fatores preditivos de morte súbita cardíaca em cães da raça Doberman Pinscher está o tamanho cardíaco representado pela relação entre o volume diastólico final do VE (LVEDV) e a área de superfície corporal (BSA), que quando superior a 91.3 ml/m² foi considerado o indicador mais fiável de morte súbita cardíaca nestes animais. Outras variáveis como o aumento da concentração da cTn-I, a presença de taquicardia ventricular ou de CVP muito frequentes também podem ser indicadores adicionais de prognóstico do desfecho de CMD em morte súbita cardiogénica (Kluser et al., 2016). A presença de taquicardia ventricular continuada por mais de 30 segundos numa monitorização eletrocardiográfica de carácter ambulatorio (*Holter*) foi associada com a morte súbita em Doberman Pinscher com CMD oculta (O'Grady & O'Sullivan, 2004).

As causas de morte nos animais com CMD são a morte súbita por paragem cardíaca, ICC grave refratária ao tratamento conducente ao pedido de eutanásia (Estrada & Maisenbacher, 2014).

6. Considerações Finais

A CMD é uma doença cardíaca crónica de início insidioso e evolução progressiva para ICC terminal. Neste sentido é importante o diagnóstico precoce, de preferência na fase oculta da doença de forma a permitir um tratamento e acompanhamento adequado e atempado, que se irá traduzir num melhor prognóstico funcional e vital.

Os testes genéticos já disponíveis para o diagnóstico preciso de CMD têm uma importância prática sobretudo em criadores de cães de raças com predisposição, que estejam interessados em implementar programas de reprodução no sentido de minimizar ou até mesmo eliminar o fator genético como causa etiológica da doença. Na atualidade, estes testes são complexos e dispendiosos sob o ponto de vista técnico e económico e por isso a sua utilização é ocasional. No futuro poderemos esperar que a implementação do diagnóstico de CMD primária com recurso a testes genéticos permita que os animais das raças predispostas tenham uma melhoria do bem-estar animal.

A terapia génica apresenta-se como sendo muito promissora, contudo as suas limitações conhecidas relacionam-se, entre outras, com o facto dos genes identificados como causa de CMD, como por exemplo o gene da *estriatina* no Boxer, serem de grandes dimensões o que impossibilita o seu transporte através de um dos principais vetores, o adenovírus (Sleeper, 2017).

Concluo afirmando que a cardiomiopatia dilatada canina pode beneficiar grandemente de uma abordagem génica dirigida para o diagnóstico e para o tratamento, sendo por isso uma área de investigação tão apelativa como complexa.

7. Referências Bibliográficas

- Adin, D., DeFrancesco, T. C., Keene, B., Tou, S., Meurs, K., Atkins, C., ... Saker, K. (2019). Echocardiographic phenotype of canine dilated cardiomyopathy differs based on diet type. *Journal of Veterinary Cardiology*, *21*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2018.11.002>
- Alroy, J., Rush, J. E., & Sarkar, S. (2005). Infantile dilated cardiomyopathy in Portuguese water dogs: Correlation of the autosomal recessive trait with low plasma taurine at infancy. *Amino Acids*, *28*(1), 51–56. <https://doi.org/10.1007/s00726-004-0149-6>
- Beier, P., Reese, S., Holler, P. J., Simak, J., Tater, G., & Wess, G. (2015). The role of hypothyroidism in the etiology and progression of dilated cardiomyopathy in doberman pinschers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *29*(1), 141–149. <https://doi.org/10.1111/jvim.12476>
- Bélanger, M. C., Ouellet, M., Queney, G., & Moreau, M. (2005). Taurine-Deficient Dilated Cardiomyopathy in a Family of Golden Retrievers. *Journal of the American Animal Hospital Association*, *41*, 284–291. Retrieved from <http://www.jaaha.org/doi/pdf/10.5326/0410284>
- Borgarelli, M., Tarducci, A., Tidholm, A., & Häggström, J. (2001). Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part II: Pathophysiology and therapy. *The Veterinary Journal*, *162*(3), 182–195. <https://doi.org/10.1053/tvjl.2001.0616>
- Boyle, K. L., & Leech, E. (2012). A review of the pharmacology and clinical uses of pimobendan. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, *22*(4), 398–408. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2012.00768.x>
- Davies, M. (2016). Veterinary clinical nutrition: success stories: an overview. *Proceedings of the Nutrition Society*, *75*(03), 392–397. <https://doi.org/10.1017/s002966511600029x>
- Defrancesco, T. C., Rush, J. E., Rozanski, E. A., Hansen, B. D., Keene, B. W., Moore, D. T., & Atkins, C. E. (2007). Prospective Clinical Evaluation of an ELISA B-Type Natriuretic Peptide Assay in the Diagnosis of Congestive Heart Failure in Dogs Presenting with Cough or Dyspnea. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *21*, 243–250.
- Distl, O., Vollmar, A. C., Broschk, C., Hamann, H., & Fox, P. R. (2007). Complex segregation analysis of dilated cardiomyopathy (DCM) in Irish wolfhounds. *Heredity*, *99*(4), 460–465. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6801024>
- Dukes-McEwan, J., Borgarelli, M., Tidholm, A., Vollmar, A. C., & Häggström, J. (2003). Proposed Guidelines for the Diagnosis of Canine Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology*, *5*(2), 7–19. [https://doi.org/10.1016/S1760-2734\(06\)70047-9](https://doi.org/10.1016/S1760-2734(06)70047-9)
- Dutton, E., & López-Alvarez, J. (2018). An update on canine cardiomyopathies – is it all in the genes? *Journal of Small Animal Practice*, *59*(8), 455–464. <https://doi.org/10.1111/jsap.12841>

- Elliott, P., Keren, A., Maisch, B., Seferovic, P., Dubourg, O., Arbustini, E., ... Tavazzi, L. (2007). Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the european society of cardiology working group on myocardial and pericardial diseases. *European Heart Journal*, 29(2), 270–276. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehm342>
- Estrada, A. H., & Maisenbacher, H. W. (2014). Dilated Cardiomyopathy in Dogs. In *Kirk ' s Current Veterinary Therapy XV* (15th editi, pp. 2119–2129).
- Freeman, L. M., Stern, J. A., Fries, R., Adin, D. B., & Rush, J. E. (2018). Diet-associated dilated cardiomyopathy in dogs: what do we know? *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 253(11), 1390–1394. <https://doi.org/10.4324/9780203894644>
- Hallman, B. E., Hauck, M. L., Williams, L. E., Hess, P. R., & Suter, S. E. (2019). Incidence and risk factors associated with development of clinical cardiotoxicity in dogs receiving doxorubicin. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1–9. <https://doi.org/10.1111/jvim.15414>
- Kaplan, J. L., Stern, J. A., Fascetti, A. J., Larsen, J. A., Skolnik, H., Peddle, G. D., ... Ontiveros, E. (2018). Taurine deficiency and dilated cardiomyopathy in golden retrievers fed commercial diets. *PLoS ONE*, 13(12), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209112>
- Kittleson, M. D., Keene, B., Pion, P. D., & Loyer, C. G. (1997). Results of the multicenter spaniel trial (MUST): taurine- and carnitine-responsive dilated cardiomyopathy in American cocker spaniels with decreased plasma taurine concentration. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 11(4), 204–211. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1997.tb00092.x>
- Kluser, L., Holler, P. J., Simak, J., Tater, G., Smets, P., Rugamer, D., ... Wess, G. (2016). Predictors of Sudden Cardiac Death in Doberman Pinschers with Dilated Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30, 722–732. <https://doi.org/10.1111/jvim.13941>
- Klüser, L., Maier, E. T., & Wess, G. (2019). Evaluation of a high-sensitivity cardiac troponin I assay compared to a first-generation cardiac troponin I assay in Doberman Pinschers with and without dilated cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(1), 54–63. <https://doi.org/10.1111/jvim.15384>
- Lam, C., Casamian-sorrosal, D., Monteith, G., & Fonfara, S. (2019). Heart-fatty acid binding protein in dogs with degenerative valvular disease and dilated cardiomyopathy. *The Veterinary Journal*, 244, 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.11.017>
- Lee, Y. R., Kang, M. H., & Park, H. M. (2015). Anthracycline-induced cardiomyopathy in a dog treated with epirubicin. *Canadian Veterinary Journal*, 56(6), 571–574.
- Lobo, L., Canada, N., Bussadori, C., Gomes, J. L., & Carvalheira, J. (2008). Transthoracic echocardiography in Estrela Mountain dogs: Reference values for the breed. *Veterinary Journal*,

177(2), 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.03.024>

- Lobo, L., & Pereira, R. (2002). Cardiomiopatia dilatada canina. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 97, 153–159.
- Lobo, L., Pinheiro-Vieira, A., Gomes, J. L., Canada, N., Ribeiro, L., Costa, P. D., ... Bussadori, C. (2012). Dilated Cardiomyopathy and Sinoatrial Dysfunction in an Estrela Mountain Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 48(1), 54–59. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-5659>
- Maisch, B., Noutsias, M., Ruppert, V., Richter, A., & Pankuweit, S. (2012). Cardiomyopathies: Classification, Diagnosis, and Treatment. *Heart Failure Clinics*, 8(1), 53–78. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2011.08.014>
- Maron, B. J., Towbin, J. A., Thiene, G., Antzelevitch, C., Corrado, D., Arnett, D., ... Young, J. B. (2006). Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies. *Circulation*, 113(14), 1807–1816. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.174287>
- Mausberg, T. B., Wess, G., Simak, J., Keller, L., Drögemüller, M., Drögemüller, C., ... Leeb, T. (2011). A Locus on Chromosome 5 Is Associated with Dilated Cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *PLoS ONE*, 6(5), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020042>
- McEwan, J. (2000). Canine Dilated Cardiomyopathy 2. Pathophysiology and treatment. *Companion Animal Practice*, 620–628. <https://doi.org/10.1016/B978-1-56053-352-8.50040-7>
- Meurs, K. M., Fox, P. R., Norgard, M., Spier, A. W., Lamb, A., Koplitz, S. L., & Baumwart, R. D. (2007). A Prospective Genetic Evaluation of Familial Dilated Cardiomyopathy in the Doberman Pinscher. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 1016–1020.
- Meurs, K. M., Friedenber, S. G., Kolb, J., Saripalli, C., Tonino, P., Woodruff, K., ... Granzier, H. (2019). A missense variant in the titin gene in Doberman pinscher dogs with familial dilated cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Human Genetics*. <https://doi.org/10.1007/s00439-019-01973-2>
- Meurs, K. M., Lahmers, S., Keene, B. W., White, S. N., Oyama, M. A., Mauceli, E., & Lindblad-Toh, K. (2012). A splice site mutation in a gene encoding for PDK4, a mitochondrial protein, is associated with the development of dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher. *Human Genetics*, 131(8), 1319–1325. <https://doi.org/10.1007/s00439-012-1158-2>
- Meurs, K. M., Miller, M. W., & Wright, N. A. (2001). Clinical features of dilated cardiomyopathy in Great Danes and results of a pedigree analysis: 17 cases (1990 – 2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(5), 729–732.
- Meurs, K. M., Stern, J. A., Sisson, D. D., Kittleson, M. D., Cunningham, M. K., Ames, M. K., ... Tou, S. P. (2013). Association of Dilated Cardiomyopathy with the Striatin Mutation Genotype in Boxer Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27, 1437–1440.

- Nikolaidis, L. A., Sturzu, A., Stolarski, C., Elahi, D., Shen, Y. T., & Shannon, R. P. (2004). The development of myocardial insulin resistance in conscious dogs with advanced dilated cardiomyopathy. *Cardiovascular Research*, *61*(2), 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.11.027>
- O'Grady, M. R., & O'Sullivan, M. L. (2004). Dilated cardiomyopathy: An update. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, *34*(5), 1187–1207. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.05.009>
- O'Sullivan, M. L., O'Grady, M. R., & Minors, S. L. (2007). Plasma Big Endothelin-1, Atrial Natriuretic Peptide, Aldosterone, and Norepinephrine Concentrations in Normal Doberman Pinschers and Doberman Pinschers with Dilated Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *21*, 92–99.
- Owczarek-Lipska, M., Mausberg, T. B., Stephenson, H., Dukes-McEwan, J., Wess, G., & Leeb, T. (2012). A 16-bp deletion in the canine PDK4 gene is not associated with dilated cardiomyopathy in a European cohort of Doberman Pinschers. *Animal Genetics*, *44*(2), 239. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2012.02396.x>
- Oyama, M. A. (2015). Using Cardiac Biomarkers in Veterinary Practice. *Clinics in Laboratory Medicine*, *35*(3), 555–566. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.05.005>
- Oyama, M. A., & Sisson, D. D. (2004). Cardiac Troponin-I Concentration in Dogs with Cardiac Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *18*, 831–839.
- Oyama, M. A., Sisson, D. D., & Solter, P. F. (2007). Prospective screening for occult cardiomyopathy in dogs by measurement of plasma atrial natriuretic peptide, B-type natriuretic peptide, and cardiac troponin-I concentrations. *American Journal of Veterinary Research*, *68*(1), 42–47. <https://doi.org/10.2460/ajvr.68.1.42>
- Palomar, A., Mena-Aguilar, G., Cruz-García, M., Pastelín-Rojas, C., & Villa-Mancera, A. (2017). Production of aldosterone in cardiac tissues of healthy dogs and with dilated cardiomyopathy. *Veterinary World*, *10*(11), 1329–1332. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1329-1332>
- Palomar, A. R., Bravo, M. R., Mancera, A. E., & Mucha, C. J. (2016). Expression and biochemical characteristics of two different aldosterone receptors in both healthy and dilated cardiomyopathy dog heart tissue. *Veterinary Research Communications*, *41*(1), 9–14. <https://doi.org/10.1007/s11259-016-9667-4>
- Paradies, P., Carlucci, L., Woitek, F., Staffieri, F., Lacitignola, L., Ceci, L., ... Recchia, F. A. (2019). Intracoronary Gene Delivery of the Cytoprotective Factor Vascular Endothelial Growth Factor-B167 in Canine Patients with Dilated Cardiomyopathy: A Short-Term Feasibility Study. *Veterinary Sciences*, *6*(1), 23. <https://doi.org/10.3390/vetsci6010023>

- Parker, H. G., Meurs, K. M., & Ostrander, E. A. (2006). Finding cardiovascular disease genes in the dog. *Journal of Veterinary Cardiology*, *8*(2), 115–127. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2006.04.002>
- Philipp, U., Vollmar, A., Haggstrom, J., Thomas, A., & Distl, O. (2012). Multiple Loci Are Associated with Dilated Cardiomyopathy in Irish Wolfhounds. *PLoS ONE*, *7*(6), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036691>
- Pinto, Y. M., Elliott, P. M., Arbustini, E., Adler, Y., Anastasakis, A., Böhm, M., ... Charron, P. (2016). Proposal for a revised definition of dilated cardiomyopathy, hypokinetic non-dilated cardiomyopathy, and its implications for clinical practice: a position statement of the ESC working group on myocardial and pericardial diseases. *European Heart Journal*, *37*(23), 1850–1858. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv727>
- Powers, J. C., & Recchia, F. (2018). Canine Model of Pacing-Induced Heart Failure. *Methods in Molecular Biology*, *1816*, 3–14. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8597-5_1
- Salimian, S., Thibault, B., Finnerty, V., & Gre, J. (2015). Phase analysis of gated blood pool SPECT for multiple stress testing assessments of ventricular mechanical dyssynchrony in a tachycardia-induced dilated cardiomyopathy canine model. *Journal of Nuclear Cardiology*. <https://doi.org/10.1007/s12350-015-0338-6>
- Sanderson, S. L. (2006). Taurine and Carnitine in Canine Cardiomyopathy. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, *36*(6), 1325–1343. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2006.08.010>
- Santos, A., Fernández-Friera, L., Villalba, M., López-Melgar, B., España, S., Mateo, J., ... Ruiz-Cabello, J. (2015). Cardiovascular imaging: What have we learned from animal models? *Frontiers in Pharmacology*, *6*, 1–25. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00227>
- Simpson, S., Dunning, M. D., Brownlie, S., Patel, J., Godden, M., Cobb, M., ... Rutland, C. S. (2016). Multiple genetic associations with irish wolfhound dilated cardiomyopathy. *BioMed Research International*, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2016/6374082>
- Simpson, S., Edwards, J., Ferguson-Mignan, T. F. N., Cobb, M., Mongan, N. P., & Rutland, C. S. (2015). Genetics of human and canine dilated cardiomyopathy. *International Journal of Genomics*, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2015/204823>
- Singletary, G. E., Morris, N. A., Lynne O'Sullivan, M., Gordon, S. G., & Oyama, M. A. (2012). Prospective Evaluation of NT-proBNP Assay to Detect Occult Dilated Cardiomyopathy and Predict Survival in Doberman Pinschers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *26*(6), 1330–1336. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.1000.x>
- Sisson, D., O'Grady, M. R., & Calvert, C. A. (1999). Myocardial diseases of dogs. In *Textbook of Canine and Feline Cardiology: Principles and clinical practice* (second edition, pp. 581–619). <https://doi.org/10.1360/zd-2013-43-6-1064>

- Sleeper, M. M. (2017). Status of Therapeutic Gene Transfer to Treat Cardiovascular Disease in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 47(5), 1113–1121. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2017.04.005>
- Sleeper, M. M., Henthorn, P. S., Vijayasathy, C., Dambach, D. M., Bowers, T., Tijskens, P., ... Lankford, E. B. (2002). Dilated Cardiomyopathy in Juvenile Portuguese Water Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16, 52–62.
- Stern, J. A., & Meurs, K. M. (2017). Canine Myocardial Disease. In *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat* (8th edition, pp. 3071–3091). Elsevier.
- Stern, J. A., & Ueda, Y. (2018). Inherited cardiomyopathies in veterinary medicine. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1007/s00424-018-2209-x>
- Summerfield, N. J., Boswood, A., Grady, M. R. O., Gordon, S. G., Oyama, M. A., Smith, S., ... Watson, P. (2012). Efficacy of Pimobendan in the Prevention of Congestive Heart Failure or Sudden Death in Doberman Pinschers with Preclinical Dilated Cardiomyopathy (The PROTECT Study). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 1337–1349.
- Tidholm, A., Häggström, J., Borgarelli, M., & Tarducci, A. (2001). Canine Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. Part I: Aetiology, Clinical Characteristics, Epidemiology and Pathology. *Veterinary Journal*, 162(2), 92–107. <https://doi.org/10.1053/tvj.2001.0571>
- Tidholm, A., Häggström, J., & Hansson, K. (2001). Effects of dilated cardiomyopathy on the renin-angiotensin-aldosterone system, atrial natriuretic peptide activity, and thyroid hormone concentrations in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 62(6), 961–967. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.961>
- Tidholm, A., & Jönsson, L. (2005). Histologic characterization of canine dilated cardiomyopathy. *Veterinary Pathology*, 42(1), 1–8. <https://doi.org/10.1354/vp.42-1-1>
- Vollmar, C., Vollmar, A., Keene, B. W., Fox, P. R., Reese, S., & Kohn, B. (2019). Dilated cardiomyopathy in 151 Irish Wolfhounds: Characteristic clinical findings, life expectancy and causes of death. *The Veterinary Journal*, 245, 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.12.018>
- Ward, J., Ware, W., & Viall, A. (2019). Association between atrial fibrillation and right-sided manifestations of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease or dilated cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology*, 21, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2018.10.006>
- Ware, W. (2007). Myocardial Diseases of the Dog. In *Cardiovascular Disease in Small Animal Medicine* (pp. 280–292). <https://doi.org/10.1201/b15177>
- Wess, G., Butz, V., Mahling, M., & Stat, D. (2011). Evaluation of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a diagnostic marker of various stages of cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *American*

Journal of Veterinary Research, 72(5), 4–5.

Wess, G., Domenech, O., Dukes-McEwan, J., Häggström, J., & Gordon, S. (2017). European Society of Veterinary Cardiology screening guidelines for dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *Journal of Veterinary Cardiology*, 19(5), 405–415. <https://doi.org/10.1016/J.JVC.2017.08.006>

Wess, G., Simak, J., Mahling, M., & Hartmann, K. (2010). Cardiac Troponin I in Doberman Pinschers with Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 843–849. <https://doi.org/10.1016/j.asams.2010.09.011>

Wiersma, A. C., Stabej, P., Leegwater, P. A. J., Van Oost, B. A., Ollier, W. E., & Dukes-McEwan, J. (2008). Evaluation of 15 candidate genes for dilated cardiomyopathy in the Newfoundland dog. *Journal of Heredity*, 99(1), 73–80. <https://doi.org/10.1093/jhered/esm090>