

Dosagem sérica de troponina I em cães com desnível do segmento ST utilizando quimioluminescência

[Serum determination of troponin I in dogs with ST deviation by chemiluminescent]

A.L.F. Santos¹, M.H.M.A. Larsson¹, G.G. Pereira¹, M.M. Santos¹, V.C.R. Gutierrez²

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo
Av. Prof. Orlando Marques de Paiva, 87
05508-270 - São Paulo, SP

²Hospital Universitário - Universidade de São Paulo - São Paulo, SP

RESUMO

Com o intuito de verificar algum dano nas células do miocárdio, utilizaram-se 38 cães, 20 com traçado eletrocardiográfico normal, grupo 1, e 18 com desníveis do segmento ST, grupo 2, em registro na derivação II, velocidade de 50mm/s e sensibilidade N (1mV=1cm). No grupo 1, a dosagem sérica de troponina I (cTnI) destinou-se à obtenção dos valores referenciais (ng/mL) que seriam confrontados com os obtidos no grupo 2. A média e o desvio-padrão foram, respectivamente, 0,16ng/mL e 0,11ng/mL e 0,20ng/mL e 0,11ng/mL, nos grupos 1 e 2. A cTnI não apresentou evidências de associação com idade, massa corpórea, creatinafosfoquinase total e potássio nos dois grupos. Não houve diferenças significativas nos valores de cTnI entre os grupos. Conclui-se que é possível a utilização do *kit* de ensaio imunométrico quimioluminescente humano para a espécie canina e que a hipóxia-isquemia, revelada pelo desnível do segmento ST não acarreta dano miocárdico ou este é mínimo e indetectável.

Palavras-chave: cão, troponina I, segmento ST, eletrocardiografia

ABSTRACT

In order to investigate myocardial cells injury, 38 dogs were evaluated, being 20 with a normal electrocardiogram (group 1) and 18 with ST segment elevation or depression (group 2), recorded in lead II, at paper speed of 50 mm/sec and N sensibility (1 mV = 1cm). Serum measurement of troponin I (cTnI) in group 1 was determined to obtain reference values (ng/mL). These values were compared to those obtained in dogs from group 2, to confirm or not myocardial injury. Mean cTnI values in groups 1 and 2 were 0.16ng/mL (SD±0.11ng/mL) and 0.20ng/mL (SD±0.11ng/mL), respectively. Three cTnI null values were found in group 1. cTnI was not related to age, mass, CK-T or serum potassium concentration in both animal groups, for each level varied in the group. There was no difference in cTnI values between groups 1 and 2. In conclusion, it is possible to use the human chemiluminescent immunometric assay kit in canine species and hypoxia/ischemia revealed by ST segment deviation does not mean significant myocardium injury.

Keywords: dog, troponin I, Dogs, ST segment, electrocardiography

INTRODUÇÃO

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é uma afecção comum no homem, cujo sintoma típico é a “dor no peito”, irradiada para braços e costas. Indivíduos com estes sintomas são monitorados

pelo exame eletrocardiográfico, bem como por meio da dosagem dos marcadores de hipóxia-isquemia miocárdica (Bonow *et al.*, 2009). Entende-se por hipóxia miocárdica a insuficiente oxigenação do músculo cardíaco (Robbins *et al.*, 2001), apesar da perfusão adequada (Bonow *et al.*, 2009), enquanto isquemia é a privação de

Recebido em 4 de junho de 2010

Aceito em 30 de junho de 2011

E-mail: andrvet@usp.br

oxigênio, acompanhada de inadequada remoção dos metabólitos.

Um marcador de injúria miocárdica muito utilizado são as troponinas. O complexo troponina regula a interação actina-miosina nos músculos estriados (esquelético e cardíaco) e tem, portanto, papel no acoplamento eletromecânico dessa musculatura, não sendo encontrado na musculatura lisa (Lobetti *et al.*, 2002; Schobber *et al.*, 2002a; Procajlo *et al.*, 2005; Fonfara *et al.*, 2010).

A liberação de troponina na circulação sanguínea ocorre pela dissociação do aparelho contrátil e relaciona-se à lesão irreversível na célula miocárdica, apresentando, na circulação, meia-vida de duas horas e excreção renal (Ramos e Magalhães, 2000). Sabe-se, segundo Feng *et al.* (1998), que não há aumento nos níveis séricos de troponina I (cTnI) em indivíduos que apresentem doença muscular crônica. A estrutura das troponinas cardíacas é semelhante no cão e no homem (Schobber *et al.*, 2002b). Os genes que codificam cTnI foram sequenciados e clonados nas espécies canina e felina e observou-se semelhança de 95 e 96%, respectivamente, em relação aos mesmos genes no homem (Rishniw *et al.*, 2004). Esse fato ratifica o uso de imunoenaios, utilizando anticorpo monoclonal humano, no diagnóstico de lesão cardíaca em cães e gatos (Rishniw *et al.*, 2004; Adin *et al.*, 2006; Burgener *et al.*, 2006; Fonfara *et al.*, 2010). Nos últimos anos, desenvolveram-se métodos de ensaios analíticos baseados no princípio da quimioluminescência, que ocorre na oxidação de certas moléculas (Weeks, 1997). A oxidação gera produtos em estado eletrônico excitado e estes, consequentemente, emitem luz (Weeks, 1997; Feitosa *et al.*, 2002).

A aterosclerose é rara nos cães e, quando ocorre, está associada ao hipotireoidismo não controlado, porém hipóxia-isquemia, com consequente infarto, é comum em decorrência de embolismo coronariano – endocardite infecciosa, particularmente da valva aórtica –, septicemia e neoplasia pulmonar (Thomas, 1987). Cães que apresentam a síndrome dilatação-torção gástrica frequentemente desenvolvem arritmias ventriculares – extra-sístoles e taquicardia ventricular –, que podem ocasionar isquemia focal e necrose miocárdica, e o mesmo fato

ocorre na pancreatite aguda (Fox, 1992; Herndon *et al.*, 2002; Burgener *et al.*, 2006).

Cardiopatias que evoluem para insuficiência cardíaca congestiva – cardiomiopatias dilatada, hipertrófica, restritiva e endocardiose mitral e/ou tricúspide – causam hipóxia-isquemia do músculo cardíaco e, consequentemente, induzem à liberação de cTnI na circulação (Schobber *et al.*, 2002a; Herndon *et al.*, 2002; Fonfara *et al.*, 2010). Além da detecção do dano miocárdico, a cTnI pode ser utilizada para monitorar o dano miocárdico cronicamente, servindo como parâmetro prognóstico (Fonfara *et al.*, 2010). O segmento ST pode apresentar duas alterações em sua morfologia: o infra e o supradesnível, indicando má oxigenação do miocárdio (Tilley, 1992).

Os distúrbios eletrolíticos, especialmente os relacionados ao cátion potássio (K), podem causar alterações na morfologia do segmento ST (Tilley, 1992). A hipopotassemia ocorre quando o nível sérico de potássio está abaixo de 3,0mEq/L, ocasionando aumento na relação K intracelular:K extracelular e tornando o miocárdio menos excitável. Tem como causas a insuficiência renal crônica, a administração excessiva de mineralocorticoides, a emese e quadros diarreicos severos e a administração, de altas doses e por período prolongado, dos diuréticos de alça (Tilley e Junior, 2008). Na hiperpotassemia, a concentração sérica de potássio ultrapassa os 6,5mEq/L e há, consequentemente, a diminuição na relação K intracelular/K extracelular e hiperexcitabilidade miocárdica, tendo como causas a insuficiência renal aguda, ruptura vesical, obstrução uretral, trauma muscular, intoxicação digitálica, altas dosagens de diuréticos poupadores de potássio, entre outras (Tilley e Junior, 2008).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 38 cães, machos ou fêmeas, com ou sem definição racial, pesos corpóreos e idades variadas, distribuídos em dois grupos: o grupo 1 foi constituído por 20 cães hígdos e com exames eletrocardiográficos normais, e o grupo 2 por 18 cães que apresentavam desníveis (infra ou supra) do segmento ST.

Os cães utilizados foram provenientes do Serviço de Cardiologia de Hospital Veterinário Escola e

seu uso foi aprovado pela Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, protocolo nº 238/2002. Cães sabidamente portadores de neoplasias, gastroenterite, dermatopatias, miopatias e frequentadores das regiões litorâneas, em razão do risco de contraírem a *Dirofilaria immitis*, não foram incluídos no estudo. O exame físico consistiu na determinação das frequências cardíaca e respiratória, mensuração da temperatura retal, inspeção das mucosas oral, ocular e peniana-vaginal, palpação abdominal e dos linfonodos e auscultação cardiorrespiratória.

Os exames radiográficos foram realizados no aparelho de radiodiagnóstico CGR, modelo Chenonceaux, de 600mA e 130Kv, com mesa radiológica com grade e sistema *Potter-Buck* recípro-mático tipo *Par Speed*, ampola de raios-X de anodo giratório. Os filmes foram revelados e fixados na processadora automática RP-OMAT Processor Kodak. O exame radiográfico foi realizado em três projeções: laterolateral direita, laterolateral esquerda e ventrodorsal.

Os exames eletrocardiográficos foram realizados em eletrocardiógrafo Ecafex modelo ECG-6 ou Schiller modelo AT-1v, com os animais posicionados em decúbito lateral direito, sobre superfície isolante. Realizaram-se as derivações bipolares D_I, D_{II}, D_{III} e as unipolares aumentadas aVR, aVL e aVF, além das derivações pré-cordiais CV₅RL, CV₆LL, CV₆LU e V₁₀, segundo Tilley e Junior (2008).

Os exames ecocardiográficos foram realizados em aparelho de ultrassonografia Hitachi modelo EUB 515-A, com transdutor de 5MHz, microconvexo. A impressora utilizada foi a SONY modelo UP 890-CE. Foram mensurados e calculados os seguintes parâmetros no modo M, segundo as especificações e os valores de referência de Bonagura (1983), Boon (1998) e Moise e Fox (1999): dimensão da cavidade do ventrículo esquerdo no final da sístole (DSVEs); espessura da parede livre do ventrículo esquerdo na diástole (Epd); espessura do septo interventricular em diástole (ESd); fração de encurtamento (FE), calculada por meio da fórmula $(DVED - DVEs) \times 100 / DVED$; raiz da aorta (Ao); diâmetro do átrio esquerdo (AE) e relação entre Ao e AE.

As amostras de sangue foram colhidas por meio da punção das veias radial ou safenas ou jugulares – direitas ou esquerdas –, utilizando agulhas e seringas descartáveis e tubos siliconizados, providos de rolha de borracha (Vacutainer®), com capacidade para 4mL. Utilizaram-se tubos contendo EDTA-K2 (3,6mg) com anticoagulante, para a realização do hemograma, e tubos sem anticoagulante, para os exames de bioquímica sérica e cTnI. Após a realização da colheita –10mL de cada animal –, o sangue foi centrifugado a 1500g, durante 10 minutos. O soro para dosagem de cTnI foi armazenado a –20°C até, no máximo, 30 dias. A dosagem sérica de potássio foi efetuada em, no máximo, 24 horas, e o armazenamento foi idêntico ao das amostras para a dosagem de CK-MB (massa) e cTnI.

Hemograma, perfis renal e hepático e determinação sérica de potássio foram realizados em Laboratório Clínico Escola, enquanto a mensuração da cTnI foi realizada em Laboratório Clínico de Hospital Universitário Escola. A contagem global de hemácias e leucócitos e a determinação da hemoglobina foram realizadas utilizando-se o sistema automatizado Sero-nol modelo System 9020 AX. O hematócrito foi determinado pela técnica do micro-hematócrito, em centrífuga Celm modelo MH, e a contagem diferencial dos leucócitos realizada ao microscópio óptico Carl Zeiss Jenamed, em esfregaços de sangue *in natura*, corados pelo Rosenfeld.

A avaliação dos perfis renal e hepático foi realizada no analisador bioquímico automático Technicon-Bayer, modelo RA-100. O perfil renal foi avaliado por meio das dosagens séricas de ureia – método colorimétrico da urease – e de creatinina, pelo método cinético. O perfil hepático foi avaliado por meio da determinação sérica da fosfatase alcalina – método cinético colorimétrico –, aspartato e alanino aminotransferases – método cinético em ultra-violeta –, proteína total e albumina.

A dosagem de potássio sérico foi realizada pela técnica do eletrodo íon seletivo, utilizando-se o analisador OMNI-4.

Os procedimentos do ensaio para cTnI (Diagnostic ..., 2002) foram: 1 – adição de 50µL do soro do paciente na unidade teste, onde há a pérola revestida com anticorpo monoclonal de rato antitroponina e incubação a 37°C, durante 30 minutos, sob agitação intermitente; 2 – ligação da cTnI ao anticorpo da pérola; 3 – remoção do restante do soro, por centrifugação, para a porção coaxial da unidade teste; 4 – adição de 6,5mL de fosfatase alcalina de intestinos de vitelo, conjugada ao anticorpo policlonal de cabra antitroponina I tamponizada; 5 – adição do substrato quimioluminescente (éster fosfato adamantil dioxetano), incubação por 10 minutos e realização da leitura no luminômetro; 6 – para algumas características do ensaio: a) calibração de até 180ng/mL; b) sensibilidade analítica de 0,1ng/mL; c) especificidade para cTnI; d) bilirrubina no soro – causa de depressão nos valores mensurados; e) hemólise de até 570ng/mL e lipemia de até 5000ng/mL – que não alteram a precisão do ensaio.

RESULTADOS

Os animais do grupo 1 apresentaram hemograma, perfil renal, perfil hepático e exames radiográficos do tórax dentro dos padrões de normalidade (Meyer e Harvey, 1998; Tilley e Junior, 2008).

Os cães dos grupos 1 e 2 apresentaram disparidade em relação à faixa etária e peso corpóreo. Os do grupo 1 eram mais jovens – 19 cães com idade abaixo de seis anos. No grupo 2 prevaleceram cães mais velhos, com 15 animais com idade acima de sete anos (Tab. 1). Os cães do grupo 1 apresentaram massa corpórea maior e com distribuição mais homogênea, em relação aos do grupo 2 (Tab. 2). Quanto aos níveis séricos de cTnI, para os do grupo 1, a média e o desvio-padrão foram, respectivamente, de 0,16ng/mL e 0,11ng/mL, enquanto para o grupo 2 foram, respectivamente, de 0,20ng/mL e 0,11ng/mL. O teste exato de Fisher, a 5% de significância, não detectou associação entre os grupos e o nível sérico de cTnI.

Tabela 1. Identificação e concentração séria de cTnI nos animais sem alterações eletrocardiográficas (grupo 1)

Número	Definição racial	Sexo	Idade (anos)	Massa (kg)	cTnI (ng/mL)
1	SRD	F	2	14,70	0,28
2	SRD	M	2	6,20	0,07
3	SRD	F	3	20,40	<0,20
4	SRD	F	2	10,30	<0,20
5	SRD	M	6	21,30	0,07
6	Poodle toy	F	6	7,00	0,43
7	Poodle toy	F	6	4,20	0,27
8	SRD	M	2	10,20	<0,20
9	Poodle toy	M	6	8,20	0,16
10	Labrador	F	3	31,80	0,05
11	Pastor Belga	M	7	24,20	0,15
12	Teckel	M	2	12,40	0,15
13	SRD	F	3	24,70	0,12
14	SRD	M	5	19,00	0,22
15	SRD	F	2	21,80	0,09
16	SRD	M	3	16,60	0,19
17	SRD	M	3	19,00	0,24
18	SRD	M	2	12,00	0,23
19	SRD	M	2	17,40	0,23
20	SRD	M	3	15,40	0,17

SRD: sem raça definida; M: masculino; F: feminino.

Tabela 2. Identificação e concentração sérica de cTnI nos animais com desníveis do segmento ST (grupo 2)

Número	Definição racial	Sexo	Idade (anos)	Massa (kg)	cTnI (ng/mL)
1	Poodle	M	10	7,7	0,13
2	SRD	M	16	5,9	0,03
3	Cocker Spaniel	F	3	10,0	0,24
4	Poodle toy	M	8	2,8	0,52
5	Dobermann	M	9	26,0	0,33
6	Poodle	M	12	15,2	0,26
7	Yorkshire	F	9	3,2	0,24
8	Poodle	M	8	10,7	0,15
9	Terrier Brasileiro	F	11	15,3	0,05
10	Poodle	M	14	4,8	0,22
11	Teckel	M	11	5,6	0,20
12	Poodle toy	M	11	2,6	0,18
13	Poodle toy	F	1	2,4	0,14
14	Terrier Brasileiro	M	4	11,4	0,31
15	Cocker Spaniel	F	11	14,0	0,15
16	SRD	F	12	10,8	0,15
17	Teckel	M	9	11,2	0,14
18	Cocker Spaniel	F	7	12,0	0,19

SRD: sem raça definida; M: masculino; F: feminino.

DISCUSSÃO

A literatura médico-veterinária ainda é escassa em trabalhos que contemplem os marcadores cardíacos, porém nos últimos anos houve a publicação de alguns artigos que mensuraram as troponinas T e I em cães normais e em algumas situações específicas como miocardiopatias, arritmias, dispneia e síndrome dilatação-torção gástrica e após exercícios prolongados (Herndon *et al.*, 2002; Schobber *et al.*, 2002b; Burgener *et al.*, 2006; Fonfara *et al.*, 2010).

Adin *et al.* (2006) mensuraram a cTnI em três diferentes analisadores – Biosite Triage Meter, Dade-Behring Stratus e Beckman-Counter Access AccuTnI –, pela metodologia de imunoenensaio, sendo que a cTnI foi purificada e diluída em oito concentrações – 0,01; 0,1; 0,78; 1,66; 3,13; 6,25; 12,5 e 25ng/mL – de amostras provenientes de cães cardiopatas e normais. Esses autores observaram correlação entre as mensurações realizadas nos três analisadores. Isto valida os resultados obtidos neste estudo.

O valor médio de cTnI foi de $0,16 \pm 0,11$ ng/mL e média no grupo 1 e de $0,20 \pm 0,11$ ng/mL, no grupo 2. Os valores de cTnI encontrados no grupo 1 assemelham-se aos referidos por Spratt

et al. (2005), Adin *et al.* (2006), Burgener *et al.* (2006), Fonfara *et al.* (2010) em animais hígdos de raças, portes e idades variados. O critério de escolha dos cães de cada grupo baseou-se no exame eletrocardiográfico. Cães mais velhos são passíveis de apresentar deflexões do segmento ST e hipóxia-isquemia miocárdica, em razão da maior predisposição à injúria do endotélio das artérias coronárias e em decorrência das válvulo e miocardiopatias.

Nos animais do grupo 2 a distribuição do peso corpóreo foi mais homogênea do que nos do grupo 1, em razão da predominância de animais da raça Poodle, sete animais, e Cocker Spaniel, três animais no grupo 2, que juntos totalizaram 55% da amostra.

Na literatura consultada, não foram encontrados estudos, em cães, que associaram os níveis de cTnI com as deflexões do segmento ST. Sabe-se que um dos estímulos para a formação de vasos colaterais, a partir do tronco das coronárias, é a hipóxia-isquemia crônicas (Bonow, 2009). A partir dessa informação, poder-se-ia pensar que nos animais do grupo 2, com oxigenação miocárdica deficitária, houvesse estimulação para a formação de colaterais, suficientes para manter a integridade ou tornar mínimo o dano ao miócito, mas que não evitasse o distúrbio de

repolarização. Burgener *et al.* (2006) detectaram em cães sacrificados devido à síndrome dilatação-torção-gástrica valores de cTnI de até 369ng/mL. Estes valores são típicos de lesões extensas e agudas do miocárdio, não passíveis de compensação pelo surgimento de vasos colaterais, diferente do que ocorreu com os cães do grupo 2. Sabe-se que as troponinas prestam-se mais ao diagnóstico de lesões agudas, como as obtidas nas lesões oclusivas (Ramos e Magalhães, 2000; Prosek *et al.*, 2007) ou crônicas com maior comprometimento miocárdico – cTnI > 1ng/mL – (Fonfara *et al.*, 2010), aspectos que poderiam explicar, unidos à formação dos vasos colaterais, os resultados semelhantes obtidos nos grupos.

CONCLUSÕES

O *kit* de ensaio imunométrico por quimioluminescência humano, para a mensuração sérica de cTnI, pode ser utilizado na espécie canina, com a finalidade de monitorar possíveis danos ao miocárdio, em condições clínicas ou experimentais; os valores médios de cTnI obtidos em animais normais não podem ser considerados referenciais, em razão do tamanho da amostra do estudo, mas confirmam os resultados encontrados por outros autores; se não houver diferenças entre os animais, sugere-se que a cTnI não seja sensível na detecção de lesões miocárdicas ou que estas são mínimas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIN, D.B.; OYAMA, M.A.; SLEEPER, M.M. *et al.* Comparison of canine cardiac troponin I concentrations as determined by 3 analysers. *J. Vet. Intern. Med.*, v.20, p.1136-1142, 2006.

BONAGURA, J.D. M-mode echocardiography basic principles. *Vet. Clin. N. Am.: Small Animal Pract.*, v.12, p.299-319, 1983.

BONOW, R.O.; LIBBY, P.; ZIPES, D.P. *Braunwald-Tratado de doenças cardiovasculares*. São Paulo: Elsevier, 2009. 2432p.

BOON, J.A. The echocardiographic examination. In: BOON, J.A. *Manual of Veterinary Echocardiography*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998. p.151-260.

BURGENER, I.A.; KOVACEVIC, A.; MAULDIN, G.N. *et al.* Cardiac Troponins as Indicators of Acute Myocardial Damage in Dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, v.20, p.277-283, 2006.

DIAGNOSTIC Products Corporation. *Troponin I*. São Paulo: DPC, 2002.

FEITOSA, F.L.F.; CIARLINI, L.D.R.P.; CIARLINI, P.C. Quimioluminescência: princípio e aplicações. *Rev. Ed. Cont.*, v.5, p.181-185, 2002.

FENG, Y.J.; CHEN, C.; FALLON, J.T. *et al.* Comparison of Cardiac Troponin I, Creatine Kinase-MB, and Myoglobin Injury in Swine Model. *Clin. Chem.*, v.110, p.70-77, 1998.

FONFARA, S.; LOUREIRO, J.; SWIFT, S. *et al.* Cardiac troponin I as a marker for severity and prognosis of cardiac disease in dogs. *Vet. J.*, v.184, p.334-339, 2010.

FOX, P.R. Moléstias do Miocárdio. In: ETTINGER, S.J. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. São Paulo: Manole, 1992. p.1153-1189.

HERNDON, W.E.; KITTLESON, M.D.; SANDERSON, K. *et al.* Cardiac Troponin I in Feline Hypertrophic Cardiomyopathy. *J. Vet. Intern. Med.*, v.16, p.558-564, 2002.

LOBETTI, R.; DVIR, E.; PEARSON, J. Cardiac Troponins in Canine Babesioses. *J. Vet. Intern. Med.*, n.16, p.63-68, 2002.

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. *Veterinary Laboratory Medicine*. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1998.

MOÍSE, N.S.; FOX, P.R. Echocardiography and doppler imaging. In: FOX, P.R.; SISSON, D.; MOÍSE, N.S. *Textbook of canine and feline cardiology*. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1999. p.130-171.

PROCAJLO, A.; ZBANYSZEK, M.; SOBIECH, P. *et al.* Troponin: a new marker in the diagnostics of muscle diseases in animals. *J. Vet. Science*. v.6, p.297-309, 2005.

PROSEK, R.; SISSON, D.D.; OYAMA, M.A. *et al.* Distinguishing cardiac and noncardiac dyspnea in 48 dogs using plasma atrial natriuretic factor, B-type natriuretic factor, endothelin, and cardiac troponin I. *J. Vet. Intern. Med.*, v.21, p.238-242, 2007.

- RAMOS, R.F.; MAGALHÃES, H.M. Infarto agudo do miocárdio: novos métodos de diagnóstico e prognóstico. In: TIMERMAN, A.; CÉSAR, L.A.M.(Ed.). *Manual de Cardiologia (SOCESP)*. São Paulo: Atheneu, 2000. p.147-151.
- RISHNIW, M.; BARR, S.C.; SIMPSON, K.W. et al. Cloning and sequencing of the canine and feline cardiac troponin I genes. *Am. J. Vet. Res.*, v.65, p.53-58, 2004.
- ROBBINS, S.L.; KUMAR, V.; COTRAN, R.S. *Patologia Estrutural e Funcional*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.780p.
- SCHOBBER, K.; KIRBACH, B.; CORNAND, C. et al. Diagnostische und differenzialdiagnostische Wertigkeit zirkulierender kardialer Troponine bei Hund und Katze. *Tierärztl. Prax*, v.30, p.327-331, 2002a.
- SCHOBBER, K.; KIRBACH, B.; CORNAND, C. et al. Serum cardiac troponin I and cardiac troponin T concentrations in dogs with gastric dilatation-volvulus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.221, p.381-388, 2002b.
- SPRATT, D.P.; MELLANBY, R.J; DRURY, N. et al. Cardiac troponin I: evaluation I of a biomarker for the diagnosis oh heart disease in the dog. *J. Small Anim. Pract*, v.46, p.113-114, 2005.
- THOMAS, W.P. Myocardial disease of the dog. In: BONAGURA, J.D. (Ed.). *Cardiology*. New York: Churchill Livingstone, 1987. p.117-156.
- TILLEY, P.L. ST segment abnormalities. In:___ *Essentials of Canine and Feline Eletrocardiography: Interpretation and Treatment*. USA: Lea & Febiger, 1992. p.84-87.
- TILLEY, L.P.; JUNIOR, F.W.K.S. *Consulta Veterinária em 5 minutos*. São Paulo: Manole, 2008.
- WEEKS, I. Chemiluminescence Immunoassay. In: PRICE, C.P. *Principles and practice of immunoassay*. London: MacMilan, 1997. p.427-442.