



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS  
DE GRAN CANARIA



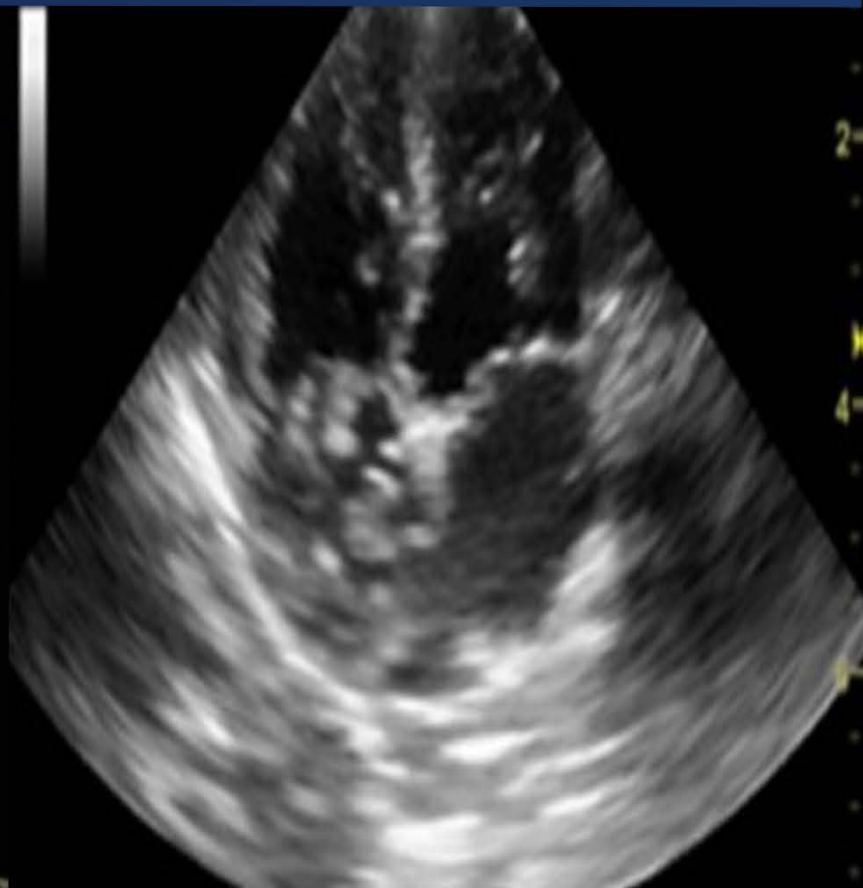
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

TESIS DOCTORAL

Cambios ecocardiográficos (por hipertensión pulmonar)  
en perros con dirofilariosis cardiopulmonar por  
*Dirofilaria immitis*



Bernardo Serrano Parreño  
Las Palmas de Gran Canaria 2017



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS  
DE GRAN CANARIA







**D. ALBERTO ARENCIBIA ESPINOSA, SECRETARIO DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,**

**CERTIFICA,**

Que la Comisión de Asesoramiento Docente del programa de Doctorado en Clínica Veterinaria e Investigación Terapéutica de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria en su sesión de fecha 3 de noviembre de 2016, tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada "Cambios ecocardiográficos (por hipertensión pulmonar) en perros con dirofilariosis cardiopulmonar por *Dirofilaria immitis*", presentada por el doctorando D. Bernardo Serrano Parreño y dirigida por los Doctores D. José Alberto Montoya Alonso, D<sup>a</sup>. Alicia Caro Vadillo y D<sup>a</sup>. Elena Carretón Gómez.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 6 del Reglamento para la elaboración, defensa, tribunal y evaluación de tesis doctorales de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, firma la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a 3 de noviembre de dos mil dieciséis.

|              |  |  |
|--------------|--|--|
| PÁGINA 1 / 1 | ID. DOCUMENTO F1869wSyaJwn3uCY1aldyA\$\$ |  |
| FIRMADO POR  | FECHA FIRMA                              |  |
|              | 07/11/2016<br>12:50:36                   |  |

Documento firmado digitalmente. Para verificar la validez de la firma copie el ID del documento y acceda a / Digitally signed document. To verify the validity of the signature copy the document ID and access to <https://sede.ulpgc.es:8443/VerificadorFirmas/ulpgc/VerificacionAction.action>



PROGRAMA DE DOCTORADO EN CLÍNICA  
E INVESTIGACIÓN TERAPÉUTICA

FACULTAD DE VETERINARIA  
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

**TESIS DOCTORAL**

**CAMBIOS ECOCARDIOGRÁFICOS  
(POR HIPERTENSIÓN PULMONAR) EN PERROS CON  
DIROFILARIOSIS CARDIOPULMONAR POR  
*DIROFILARIA IMMITIS***

**Doctorando**

Bernardo Serrano Parreño

**Directores**

J. Alberto Montoya -Alonso

Elena Carretón Gómez

Alicia Caro Vadillo



## DEDICATORIA

A mi hija Daniela Isabel, pilar vital de mi vida. Gracias por enseñarme ser mejor persona y padre cada día.





## FINANCIACIÓN

Esta tesis fué financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT), por medio de la beca 314686, en la convocatoria 290796 CONACYT-Gobierno del Estado de Chihuahua 2013.





## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría empezar con una frase célebre y darles un gran sentido épico a los agradecimientos, pero solo puedo decir que no se me ocurre ninguno en estos momentos. Bueno durante todo este largo camino debo decir que he no ha sido fácil, pero no imposible. No lo sé, creo que ahora he reconocido lo que es ser agradecido con las personas y el universo que, aunque no se vea, sé siempre las personas importantes en tu vida siempre estarán ahí, y así cada día a día te hacen sentir vivo y te dan un aliento, así como también aquellas que han estado sin ni siquiera pedirlo y le dan ese momento de espontaneidad y nuevas experiencias a esta vida. Gracias a todas esas personas que hicieron mi estancia mejor y llevadera, gracias a mi familia y a mi hija Daniela que siempre me han apoyado a su manera, a Jess por ser un gran apoyo para mi familia en mi ausencia y dedicarse a la educación y cuidado de Isabelita, que sé está muy bien y eso, al fin da tranquilidad; además de soportar el estar lejos y de aguantarme en esos días de melancolía y darme ánimos siempre que era necesario, que con tu ímpetu y energía llegaba a ser contagioso; debo hacer mención especial a doña Bárbara y a don Angel, los abuelos de mi hija, ya hubiera yo deseado tener unos abuelos llenos de tanto amor. A mis padres y hermanos que se están al pendiente de mí, aunque no nos hablemos muy seguido, ellos saben que, en ese silencio por ausencia, significa que todo va bien. A mis asesores y compañeros de trabajo, a Vanessa siempre con esa luz de su sonrisa y buena lid, a Jorgelina con sus experiencias compartidas y muestra de tenacidad y perseverancia y gran amiga, a Fátima que gracias a ella sé como es la isla, me mostró cada detalle como si de guía de turistas se tratase. A Samantha, siempre con su energía y corriendo, compañera de estudio en la sala de veterinaria, me enseñó a sonreír en los malos ratos, a Carmen, la persona más empática que he conocido y de gran corazón, me recordó que las buenas personas aún existen. Manel y Christian siempre activos y con una inteligencia y ganas de hacer las cosas que se contagiaba, además de hacerme sentir que no estaba solo entre todas mis bellas compañeras. A Yaiza y Soraya, que con su espíritu cien por cien canario y con su gran sonrisa, me hacía las mañanas, todo el día y toda la semana, trabajadoras como hormigas, con ese sentido del humor. Gracias por regalarme ese “Husky”, que llevare conmigo para aliviar los malos momentos jaja. A mis compañeros del hospital que con sus buenos días y prisa a todos lados me recordaban mis tiempos en la especialidad, con esas ganas que contagian, siempre me animaban, además de darme cuenta donde estaba y el por qué para seguir preparándome en lo que me gusta.

A Loli y Nua, en la cafetería con ese mojo y pata asada tan deliciosos y sus bocadillos, café y potajes, que si no fuera por ello no hubiera sobrevivido. A todos los chicos del hospital, a Juanmi, a Oliver, los internos, los erasmus, los de practica, los del master, a todas gracias por aguantar al mexicano metiendo narices por todos lados. Así igual a los doctores, de reproducción, oncología, cirugía, oftalmología, anestesia, endocrinología, fauna silvestre, que, aunque no pareciera me sentía cómodo caminando por el hospital, y corresponder con la sonrisa a primeras horas del día.

Regresando un poco en el tiempo, tres años para ser exactos, donde la idea se empezaba a materializar de realizar un doctorado, siempre tuve el apoyo de mis compañeros de trabajo, contándome sus experiencias, en el caso de los doctores Carlos, Ramón, y mi jefe del departamento el doctor Eduardo Pérez, así como mi jefa inmediata la doctora Carolina, y sé que están al pendiente, y debo agradecer todos sus ánimos y porras para llegar hasta donde estoy. Mención especial al Dr. Jaime Romero, mi estimado amigo, que con sus consejos he ido aprendiendo y sorteando parte de esta etapa; como no tenerlos presentes a todos.

Por último, a mis asesores que sin su apoyo y guía no estaría escribiendo estas palabras, siempre ocupados de arriba abajo, corriendo, escribiendo, hablando. No he visto mayor devoción por la investigación que en ellos. Durante este tiempo siempre estuvieron al pendiente de mí, y al final uno sabía que ellos estaban ahí, saliendo al rescate aún en los peores momentos. Esa gran sinergia entre el doctor Montoya y la doctora Elena, que el simple hecho de verlos se contagia, siempre con algo nuevo en mente sobre como conquistar el mundo. Gracias por ayudarme a lograr esta meta, que literalmente sin su ayuda no sería posible. También la doctora Alicia, que fue pilar importante al guiarme en el mundo de la ecocardiografía, y ayudarme en el uso de la estadística, que sin ella mis números y medidas no tendrían ningún sentido, además de sus consejos y ánimos. Y para terminar a las ahora, ya viejas conocidas filarias, que me enseñaron dentro de muchas otras cosas, a luchar por lo que uno en verdad ama desde el corazón.



## ÍNDICE

|          |                                      |           |
|----------|--------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUCCIÓN</b>                  | <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>OBJETIVOS</b>                     | <b>7</b>  |
| <b>3</b> | <b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>        | <b>11</b> |
| 3.1      | DIROFILARIOSIS CARDIOPULMONAR CANINA | 13        |
| 3.2      | TAXONOMIA                            | 14        |
| 3.3      | CICLO BIOLÓGICO                      | 15        |
| 3.4      | VECTORES                             | 18        |
| 3.5      | MICROFILARIAS                        | 18        |
| 3.6      | EPIDEMIOLOGÍA                        | 20        |
| 3.7      | FISIOPATOLOGÍA                       | 22        |
| 3.7.1    | Endarteritis pulmonar proliferativa  | 23        |
| 3.7.2    | Hipertensión pulmonar                | 24        |
| 3.7.3    | Insuficiencia cardíaca derecha       | 25        |
| 3.7.4    | Lesiones pulmonares                  | 26        |
| 3.7.5    | Tromboembolismo pulmonar             | 27        |
| 3.7.6    | Alteraciones renales                 | 29        |
| 3.7.7    | Otras alteraciones                   | 29        |
| 3.8      | SIGNOS CLÍNICOS                      | 30        |
| 3.9      | DIAGNÓSTICO                          | 31        |
| 3.9.1    | Microfilarias                        | 33        |
| 3.9.2    | Radiología                           | 34        |
| 3.9.3    | Ecocardiografía                      | 38        |
| 3.9.4    | Electrocardiografía                  | 42        |
| 3.9.5    | Pruebas de laboratorio               | 43        |
| 3.10     | PROFILAXIS                           | 44        |
| 3.11     | TRATAMIENTO                          | 46        |
| 3.11.1   | Tratamiento microfilarias            | 48        |

|               |  |           |
|---------------|--|-----------|
| 3.11.2        | Tratamiento frente a Wolbachia   | 48        |
| 3.11.3        | Tratamiento adulticida   | 49        |
| 3.11.4        | Tratamiento del tromboembolismo pulmonar   | 50        |
| 3.11.5        | Extracción quirúrgica de los parásitos   | 51        |
| <b>3.12</b>   | <b>HIPERTENSIÓN PULMONAR</b>   | <b>52</b> |
| 3.12.1        | Anatomía ventricular derecha   | 53        |
| <b>3.13</b>   | <b>FISIOPATOLOGÍA DE HIPERTENSIÓN PULMONAR</b>   | <b>54</b> |
| 3.13.1        | Hipoxia alveolar   | 55        |
| 3.13.2        | Control adrenérgico  | 56        |
| <b>3.13.3</b> | <b>Eicosanoides: prostaglandinas y tromboxano</b>                                      | <b>56</b> |
| 3.13.4        | Óxido nítrico (NO)   | 56        |
| 3.13.5        | Endotelina 1 (ET-1)  | 57        |
| 3.13.6        | Serotonina   | 57        |
| 3.13.7        | Angiotensina II  | 57        |
| <b>3.14</b>   | <b>HIPERTENSIÓN PULMONAR ARTERIAL POR DIROFILARIOSIS</b>                               | <b>58</b> |
| 3.14.1        | Tromboembolismo Pulmonar   | 58        |
| <b>3.15</b>   | <b>CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LA HTP</b>   | <b>59</b> |
| 3.15.1        | Clasificación clínica I: hipertensión pulmonar arterial                                | 60        |
| 3.15.2        | Clase clínica II: hipertensión pulmonar relacionada con patología de corazón izquierdo | 60        |
| 3.15.3        | Clasificación clínica III: enfermedad respiratoria crónica o hipoxia                   | 60        |
| 3.15.4        | Clase clínica IV: enfermedad tromboembólica crónica                                    | 61        |
| 3.15.5        | Clase clínica V: Multifactoriales  | 61        |
| <b>3.16</b>   | <b>CLASIFICACIÓN FUNCIONAL</b>   | <b>61</b> |
| 3.16.1        | Clase funcional I  | 62        |
| 3.16.2        | Clase funcional II   | 62        |
| 3.16.3        | Clase funcional III  | 62        |
| 3.16.4        | Clase funcional IV   | 62        |
| <b>3.17</b>   | <b>SIGNOS CLÍNICOS</b>   | <b>62</b> |
| <b>3.18</b>   | <b>LABORATORIO</b>   | <b>63</b> |
| <b>3.19</b>   | <b>BIOMARCADORES</b>   | <b>63</b> |
| <b>3.20</b>   | <b>ELECTROCARDIOGRAFÍA</b>   | <b>64</b> |

|             |   |            |
|-------------|---|------------|
| <b>3.21</b> | <b>RADIOGRAFÍA</b>                          | <b>64</b>  |
| <b>3.22</b> | <b>ECOCARDIOGRAFÍA.</b>                     | <b>65</b>  |
| <b>3.23</b> | <b>TRATAMIENTO</b>                          | <b>74</b>  |
| 3.23.1      | Análogos de la prostaciclina                | 74         |
| 3.23.2      | Antagonistas de la ET-1                     | 75         |
| 3.23.3      | Óxido nítrico (NO) y nitratos               | 75         |
| 3.23.4      | Inhibidores de la fosfodiesterasa 5 (PDE-5) | 76         |
| <b>4</b>    | <b>ARTÍCULOS</b>                            | <b>77</b>  |
| <b>5</b>    | <b>CONCLUSIONES</b>                         | <b>92</b>  |
| <b>6</b>    | <b>RESUMEN/SUMMARY</b>                      | <b>96</b>  |
| <b>7</b>    | <b>BIBLIOGRAFÍA</b>                         | <b>102</b> |
| <b>8</b>    | <b>CURRICULUM VITAE</b>                     | <b>122</b> |
| <b>9</b>    | <b>ANEXOS</b>                               | <b>129</b> |
| 9.1         | ÍNDICE DE IMÁGENES                          | 131        |
| 9.2         | ÍNDICE DE TABLAS.                           | 133        |



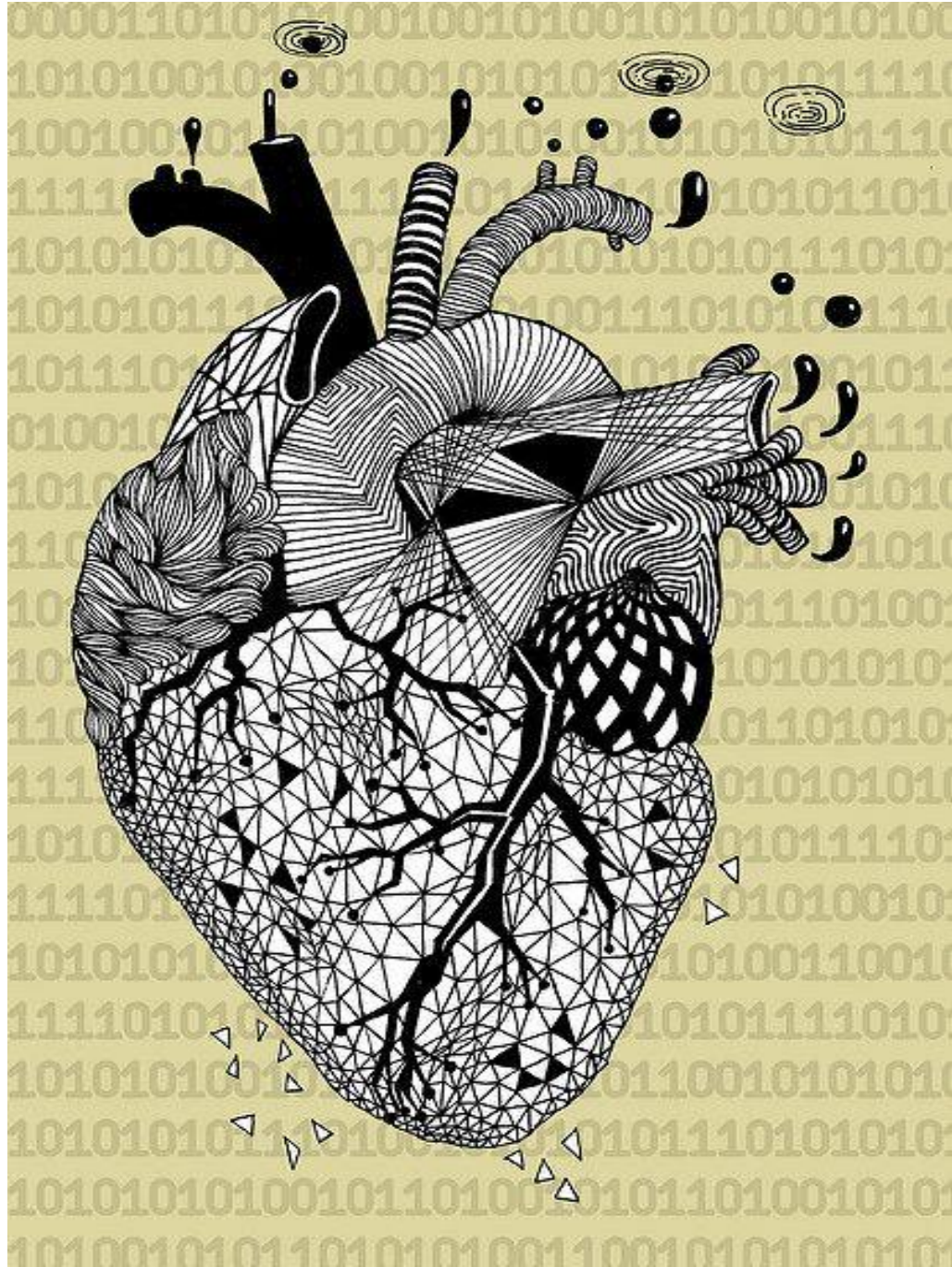


The background of the page is an abstract composition of thin, flowing lines in various shades of blue and black. Some lines are thick and dark, while others are thin and light. There are also several small black dots scattered throughout the design, some of which are connected to the lines by short segments, resembling a network or a molecular structure. The overall effect is dynamic and modern.

# 1 INTRODUCCIÓN

---





## INTRODUCCIÓN

La dirofilariosis cardiopulmonar o “*enfermedad del gusano de corazón*” en el perro, es una enfermedad producida por *Dirofilaria immitis*, parásito perteneciente al phylum Nematoda, el cual se localiza principalmente en las arterias pulmonares y en el ventrículo derecho en su fase adulta. Su distribución es cosmopolita, encontrándose principalmente en zonas tropicales y subtropicales, y lugares donde la temperatura y humedad adecuada permitan el desarrollo del vector. La transmisión es por medio de mosquitos del género *Anopheles*, *Culex* y *Aedes*, los cuales inoculan las larvas infestantes, afectando además del perro doméstico y salvaje, al gato y al humano, entre otras especies.

En los últimos años, la distribución de esta enfermedad ha tomado relevancia ya que su incidencia en diferentes localidades ha aumentado y se ha expandido, lo cual se relaciona con el movimiento geográfico del hospedador y a la “creación de puntos de calor” en zonas urbanas que favorecen el desarrollo de los vectores, entre otras causas.

Al ser una zoonosis, presenta repercusiones a nivel de medicina humana, donde esta enfermedad se caracteriza principalmente por la formación de nódulos pulmonares benignos. Su patogenia en medicina veterinaria es diferente, relacionada con la presencia de los parásitos adultos que se alojan en las arterias pulmonares y su interacción con el endotelio vascular pulmonar, donde intervienen también la bacteria *Wolbachia pipientis* y las microfilarias circulantes. Su presencia provoca una respuesta inmune e inflamación, con obstrucción física, formación de tromboembolismos pulmonares y engrosamiento de la pared vascular junto con formación de vellosidades en arterias pulmonares (denominado endarteritis pulmonar proliferativa), que provocan la disminución del lumen vascular y un aumento de la resistencia vascular pulmonar.

Dichos cambios comienzan desde la llegada de los parásitos a la vasculatura pulmonar, y se va agravando en etapas tardías de la enfermedad, desarrollándose hipertensión pulmonar, con subsecuente insuficiencia cardíaca congestiva derecha.

Los signos clínicos no son detectables durante las etapas tempranas de la enfermedad, siendo generalmente diagnosticado cuando ya existen indicios de daño pulmonar y cardíaco, y los

animales se presentan con tos o fatiga y disnea relacionadas con la actividad física, o en casos más severos ascitis, y signos de insuficiencia cardiaca congestiva derecha.

El diagnóstico definitivo se realiza por identificación serológica de antígeno con diversos test comerciales, y de manera complementaria se pueden utilizar técnicas de diagnóstico por imagen como radiología y ecocardiografía, electrocardiografía, además de identificación microscópica y molecular de microfilarias en sangre.

Debido a la gravedad de esta enfermedad, resulta de gran utilidad poder determinar los daños a nivel cardiaco y vascular mediante ecocardiografía para obtener una mejor aproximación a la hora de determinar el manejo adecuado de la enfermedad. La ecocardiografía permite evaluar la presencia de cambios en la estructura y función cardiaca; así como visualizar a las filarias adultas en arterias pulmonares proximales y corazón derecho. Estos hallazgos permiten clasificar al paciente en base a la gravedad y determinar el riesgo del tratamiento aduictida.

Para la determinación de hipertensión pulmonar arterial se utiliza la señal Doppler para identificar regurgitación tricuspídea y pulmonar; las cuales no siempre son observables o medibles. Aunque ya existen estudios previos se han encontrado problemas para la determinación del grado de hipertensión, ya sea atribuibles al operador, al paciente o a la calidad de imagen, entre otros.

Considerando lo anterior, existe un interés especial determinar una correcta evaluación ecocardiográfica de la hipertensión pulmonar. Durante las fases tempranas de la dirofilariosis, los perros son asintomáticos, y únicamente se observan signos de insuficiencia cardiaca en animales con dirofilariosis grave. Un diagnóstico temprano y una correcta evaluación del progreso de la hipertensión pulmonar permiten tomar medidas adecuadas y pueden ser de utilidad para evitar el deterioro del animal infestado.

Los cambios ecocardiográficos en caso de dirofilariosis grave están relacionados con el desarrollo de hipertensión pulmonar, como son: dilatación ventricular derecha, hipertrofia excéntrica, dilatación atrial derecha, aplanamiento de septo interventricular, movimiento septal paradójico y dilatación de la arteria pulmonar. Dichos cambios son consecuencias adaptativas de la anatomía cardiaca derecha al aumento de presión progresivo causado por la dirofilariosis

En base a estas características se han desarrollado medidas ecocardiográficas para evaluar

los cambios secundarios a ésta. Por ejemplo, el intervalo de tiempo sistólico de ventrículo derecho como tiempo de aceleración y desaceleración de flujo pulmonar, perfil de flujo de pico sistólico pulmonar, desplazamiento sistólico del anillo tricuspídeo, relación arteria pulmonar/aorta, grosor de la pared de ventrículo derecho, relación ventrículo derecho/ventrículo izquierdo, entre otros. Dado que no siempre hay presencia de regurgitación tricuspídea o pulmonar en hipertensión pulmonar, actualmente se están adaptando nuevas medidas ecocardiográficas que no necesitan presencia de jets regurgitantes para detectar la hipertensión pulmonar, como es el índice de distensibilidad de arteria pulmonar derecha.

Vista la necesidad de una correcta y objetiva determinación de la presencia de hipertensión pulmonar en perros con dirofilariosis, se estableció como objetivo de esta tesis doctoral determinar las modificaciones estructurales y funcionales del ventrículo derecho y de la arteria pulmonar mediante ecocardiografía de perros infestados por *Dirofilaria immitis*, en una región hiperendémica, y valorar la utilidad de los nuevos índices de hipertensión pulmonar.

El poder valorar de manera objetiva el estado cardiovascular del paciente proporcionará al veterinario clínico información de gran utilidad que le permitirá evaluar el estado de gravedad del animal enfermo, permitiendo tomar medidas terapéuticas necesarias para contrarrestar o evitar el empeoramiento del daño causado por la parasitación, emitir un pronóstico adecuado, y establecer una pauta de tratamiento adulticida adecuada, así como un seguimiento más certero de las complicaciones post-tratamiento.

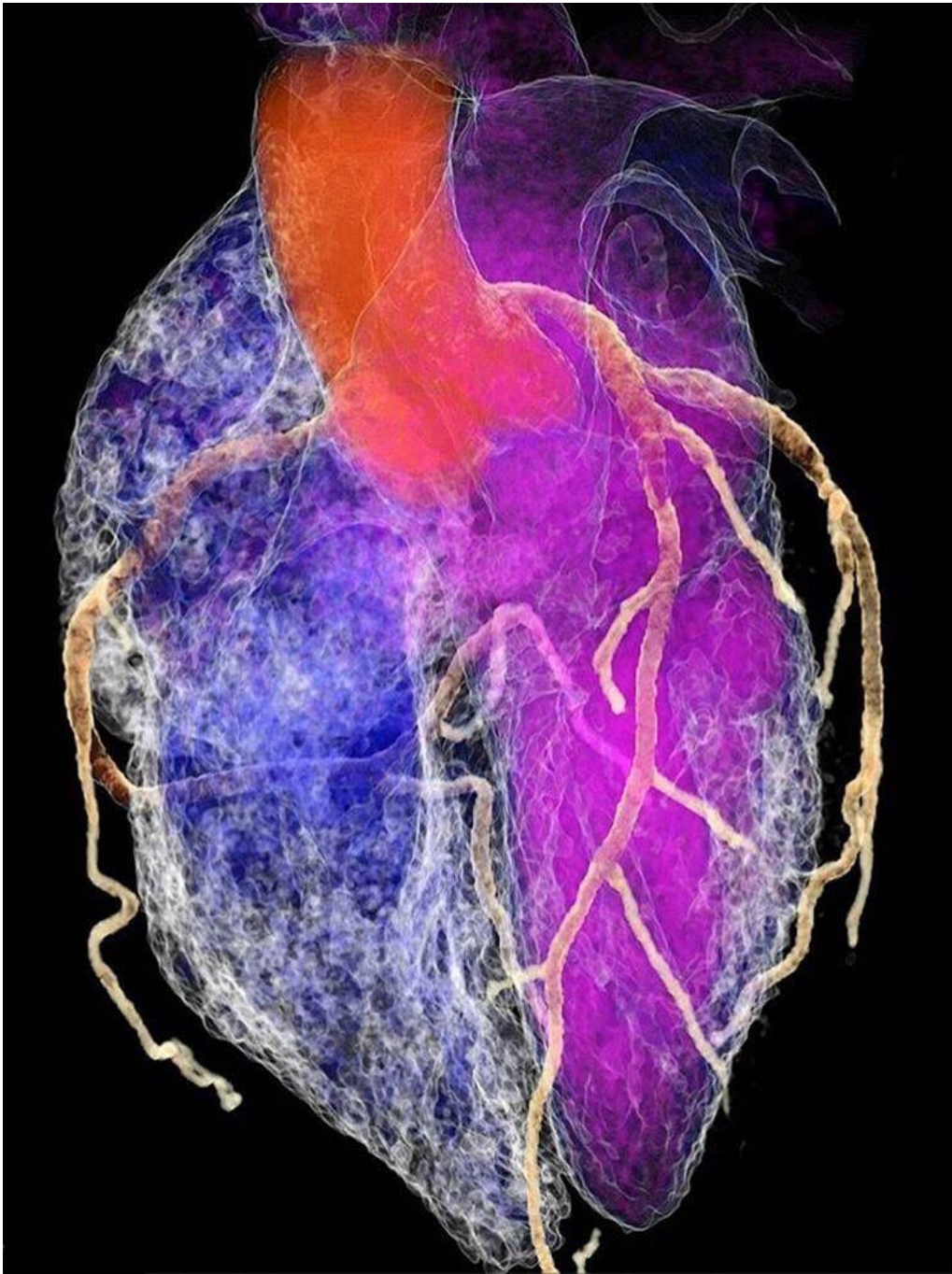




The background of the slide is an abstract composition of thin, flowing lines in various shades of blue and black. Some lines are thick and dark, while others are thin and light. There are also several small black dots scattered throughout the design, some of which are connected to the lines by short segments. The overall effect is dynamic and organic, resembling a network or a natural growth pattern.

## 2 OBJETIVOS

---



### OBJETIVOS

1. Evaluar una serie de mediciones ecocardiográficas en modo bidimensional, modo-M y Doppler empleadas comúnmente para estimar de manera indirecta la presencia de hipertensión pulmonar en perros con *Dirofilaria immitis*, con el objetivo de determinar la sensibilidad de estas medidas en comparación con el índice de distensibilidad de arteria pulmonar derecha (DAPD) en perros con dirofilariosis cardiopulmonar, así como evaluar la utilidad de estas mediciones e índice DAPD para valorar algunos aspectos clínicos de los perros infectados, como son presencia/ausencia de síntomas, carga parasitaria o presencia de microfilaremia.
2. Evaluar la influencia que ejerce la eliminación de los parásitos sobre la presión arterial pulmonar y, por lo tanto, evolución de la endarteritis, en perros con dirofilariosis cardiopulmonar.

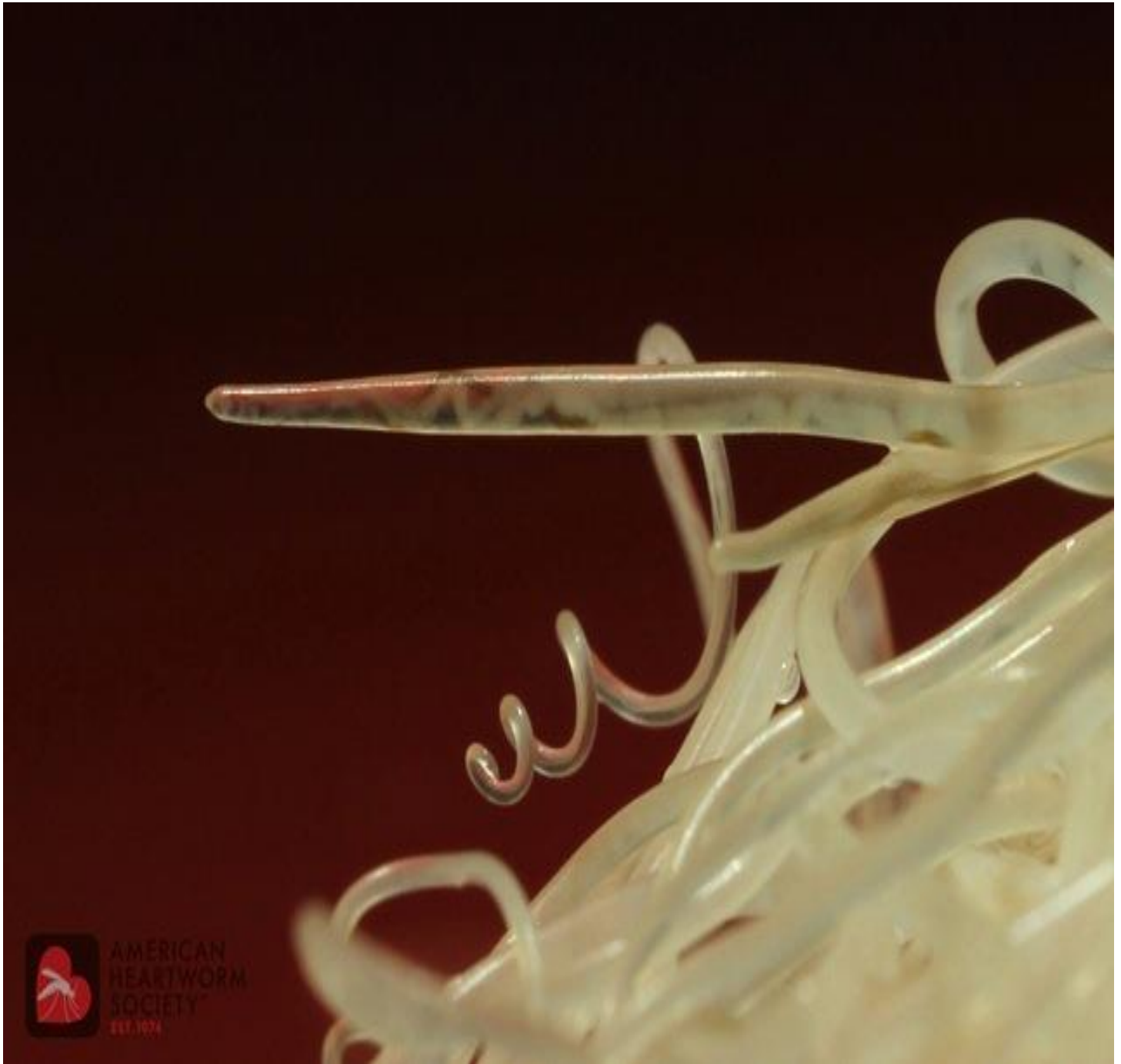




The background of the page is an abstract composition of thin, overlapping lines and dots. On the left side, there are several thick, dark blue or black lines that curve and loop, resembling a tangled web or a complex network. These lines are set against a lighter, pale blue background that is filled with many thinner, more delicate lines of the same color, some of which are straight and others curved. Scattered throughout this network are small, solid black dots and some small white circles, which appear to be nodes or data points in a network diagram. The overall effect is one of dynamic movement and interconnectedness.

## **3 REVISION BIBLIOGRÁFICA**

---



## 3.1 DIROFILARIOSIS CARDIOPULMONAR CANINA

La dirofilariosis cardiopulmonar es una patología zoonótica ocasionada por el nematodo *Dirofilaria immitis*, transmitida por mosquitos del genero *Anopheles*, *Culex* y *Aedes*, que afecta comúnmente a perros doméstico y salvajes siendo sus reservorios, así como al humano y el gato que son hospedadores, pero no reservorios de la enfermedad. (Simón et al., 2012). Principalmente, las regiones con mayor prevalencia son aquellas con mayor temperatura y humedad que favorece la transmisión a través de los vectores, (Montoya-Alonso and Carretón, 2012) aunado a la dinámica del cambio climático que facilita la introducción de nuevos vectores en regiones específicas, y en regiones donde la temperatura media se ha elevado gradualmente (Genchi et al., 2009; Simón et al., 2009; Genchi et al., 2011). (Imagen 1)



Imagen 1. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en España. Montoya-Alonso J.A. et al. 2014.

En Europa la mayor incidencia ha sido observada en los países del sur, los cuales son considerados históricamente países endémicos/ hiperendémicos. Un estudio que revisa las prevalencias entre los años 2001 a 2011 sugiere que la presentación de la enfermedad se ha extendido hacia Europa central y del norte, debido a factores antes mencionados, además del movimiento de animales infectados, introducción de nuevas especies de mosquitos capaces de

actuar como vectores y el desarrollo de actividades humanas en nuevas áreas (Morchon et al., 2012). Asimismo, los reservorios salvajes juegan un papel en la perpetuidad y transmisión del parásito en el perro (Lee et al., 2010). Esta enfermedad constituye una zoonosis, considerándose así un riesgo potencial para el humano (Otranto et al., 2013). (Imagen 2)

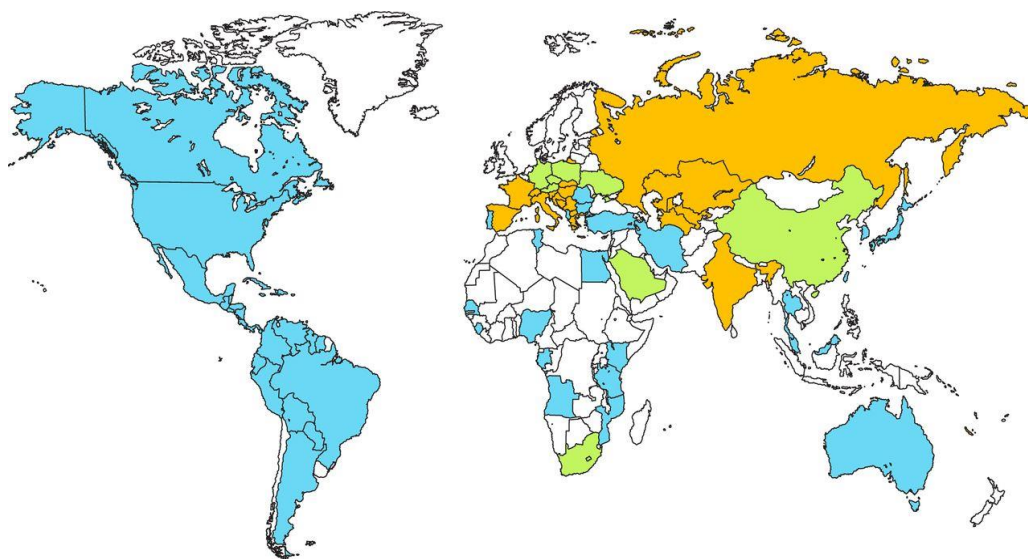


Imagen 2. Distribución mundial dirofilaria. Azul: *D. immitis*; verde: *D. repens*; naranja: ambas. Human and Animal Dirofilariasis the Emergence of a Zoonotic Mosaic. Simon et al. 2012.

En el perro, la dirofilariosis causa una patología y morbilidad pulmonar severa, acortando la expectativa de vida pudiendo ocasionar enfermedad aguda y muerte (Bowman and Atkins, 2009). Los cambios principales en el desarrollo de la enfermedad se refieren a una endarteritis proliferativa a nivel de arteria pulmonar, produciéndose un incremento progresivo de la presión arterial pulmonar (McCall et al., 2008b), ocasionado por la respuesta inmune e inflamatoria (Carreton et al., 2014b) y por la bacteria endosimbionte *Wolbachia pipientis*, así como por obstrucción física en arteria pulmonar debida a los vermes adultos y la formación de tromboembolismos pulmonares, desarrollándose hipertensión pulmonar (Kramer et al., 2008).

### 3.2 TAXONOMIA

*Dirofilaria immitis* pertenece al phylum Nematoda, clase Secernentea, orden Spirurida, suborden Spirurina, super familia Filaroidea, familia Onchocercidae, y subfamilia Dirofilarinae



(Anderson, 2000; W.C. Marquardt, 2000). La clasificación está sustentada en la organización del género *Dirofilaria* en criterios biológicos y morfológicos por su filogenia de genes RNA (Smythe et al., 2006).

### 3.3 CICLO BIOLÓGICO

Dentro de la familia Onchocercidae algunos géneros producen microfilarias que se encuentran en la sangre o en la piel, de esta forma hacen uso de los vectores que se alimentan de sangre para continuar con su ciclo biológico en otro huésped (Anderson, 2000).

En cuanto a sus características generales, *Dirofilaria immitis* es un parásito filiforme, de color blanquecino y que presenta dimorfismo sexual. Los machos tienen un diámetro de 0.7-0.9 mm y una longitud de 12-20 cm; además, presentan el extremo posterior enrollado en forma de espiral. Las hembras poseen un diámetro de 1-1.3 mm y una longitud de 25 -31 cm; son ovovivíparas (Imagen 3); los huevos larvados eclosionan en el útero, eliminando microfilarias o larvas de primer estadio (290-330  $\mu$ m de longitud y 7  $\mu$ m de diámetro) en sangre periférica (McCall et al., 2008b; Bowman and Atkins, 2009).



Imagen 3. Parasitos adultos de *Dirofilaria immitis*. (American Heartworm Society, 2014; Carretón 2013)

El ciclo de vida de *Dirofilaria* involucra a un hospedador definitivo y un vector, donde se ha visto una baja especificidad para el hospedador, ya que pueden infectar a una gran cantidad de mamíferos. Entre los hospedadores definitivos, tenemos al perro doméstico (*Canis familiaris*), y

salvaje como el coyote (*Canis latrans*) y lobos (*Canis lupus*), y al gato doméstico (*Felis catus*), los cuales funcionan como reservorios u hospedadores definitivos. Los humanos también pueden ser hospedadores, menos susceptibles, en los cuales el desarrollo del parásito es diferente comparado con el patrón de desarrollo en perros, siendo la infección en humanos de forma accidental (McCall et al., 2008b). La infección en humanos ocurre principalmente en zonas con alta prevalencia de la enfermedad en perros y no se relaciona con enfermedad clínica severa (Lee et al., 2010), considerándose una enfermedad de características zoonóticas (Simón et al., 2012).

También llega a afectar otros mamíferos de manera accidental, como son el hurón (*Mustela putorius*), leones marinos de California (*Zalophus californianus*), caballos (*Equus caballus*), y castores (*Castor canadensis*), los cuales pueden llegar a ser hospedadores de dirofilarias adultas, aunque la fase filarémica es rara (Foil and Orihel, 1975; Otto, 1975).

La fase parasitaria de la transmisión de la microfilaria hacia el vector comienza cuando el mosquito hembra ingiere sangre de un perro portador de microfilarias, las cuales migran desde el intestino hacia los tubos de Malpighi en un lapso de 24 a 36 horas donde se produce el desarrollo a fase L2 y L3 (fase larvaria infectiva). Posteriormente migran desde los túbulos al lumen de la probóscide del mosquito. Aproximadamente 10 días después de la ingesta de sangre, aparecen las larvas de 2º estadio (L2), que miden entre 188 y 586 µm de longitud. La siguiente muda ocurre entre el 13º y el 15º día después de la toma de sangre, dando lugar a la larva de 3er estadio (L3). La duración del desarrollo larvario en los mosquitos varía dependiendo de las condiciones ambientales, principalmente de la temperatura. A 28-30°C dura de 8 a 10 días, a 24°C entre 11 y 12 días, y a 22°C entre 16 y 20 días. (Anderson, 2000; Cancrini and Kramer, 2001). Por lo que las temperaturas óptimas para que termine su desarrollo son superiores a los 14°C, además de que el vector debe tener al menos 30 días de edad (Genchi et al., 2009).

Durante la etapa parasitaria, cuando el mosquito se alimenta inocula las larvas en el hospedador definitivo, y éstas comienzan su desarrollo hasta el estado adulto. La larva L3, que mide aproximadamente un milímetro (mm), permanece en los músculos o tejido subcutáneo; posteriormente muda a L4 y permanece en el tejido subcutáneo hasta 3 semanas para posteriormente localizarse en fibras musculares, alcanzando un tamaño de 4 mm al mes y llegando a 1 centímetro (cm) a los dos meses. La muda al estado pre-adulto (L5) ocurre entre los días 50 y



### 3.4 VECTORES

La dirofilariosis es una enfermedad de ciclo indirecto por transmisión vectorial, donde los hospedadores intermedios son mosquitos que pertenecen a los géneros *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*, *Culiseta* y *Coquillettidia* (Cancrini and Kramer, 2001). (Imagen 5). En las diferentes áreas de Europa estudios han identificado la presencia de los diversos vectores presentes, para así poder determinar la presencia de nuevos vectores y su localización en Europa, y la incidencia de la enfermedad en diferentes regiones de Europa (Genchi et al., 2005; Montoya-Alonso et al., 2010; Montoya-Alonso et al., 2011; Genchi et al., 2011; Diaz, 2015). (Imagen 6). Por ejemplo, en el área central y nordeste de Italia el género *Culex pipiens*, con 12 especies diferentes, es el principal transmisor de la enfermedad (Cancrini et al., 2006; Capelli et al., 2013).

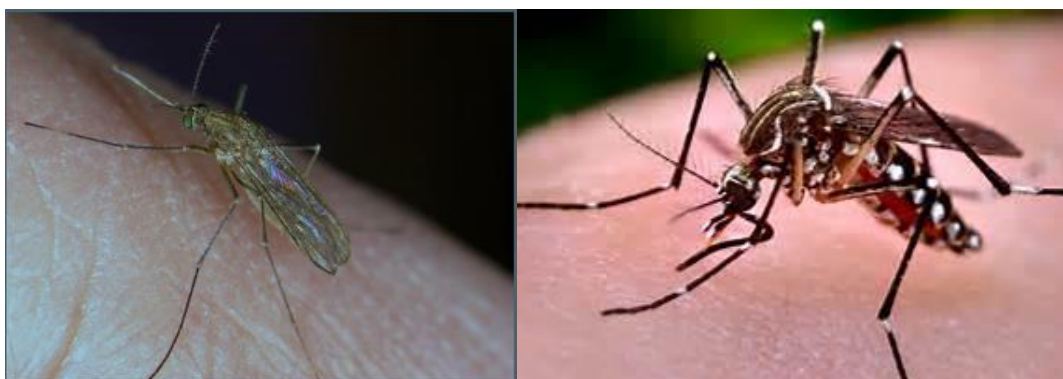


Imagen 5. Izq. mosquito del género *Culex*; der. Mosquito del género *aedes spp.* (www.vectorbase.org).

De igual forma, en el continente americano se realizan estudios para conocer su distribución y presentación tanto en vectores como la incidencia en humanos dada su importancia como enfermedad emergente (Bowman et al., 2009; Huang et al., 2013; McKay et al., 2013).

### 3.5 MICROFILARIAS

Algunos estudios determinan que la presencia de microfilarias en la sangre está sometida a una determinada periodicidad, ya que durante las temporadas de primavera y verano la cantidad de microfilarias circulantes es mayor comparado con otoño y diciembre, mientras que al final de

la tarde y al final de la noche el número de microfilarias es mayor, lo que presupone que se relaciona con la viabilidad temporal del vector (Bowman and Atkins, 2009).

Existen ciertas dinámicas de interacción entre el perro y vectores que son importantes para la transmisión del parásito; por ejemplo, no se ha demostrado la correlación entre el número de microfilarias circulantes por ml de sangre y el número de adultos presentes en arterias pulmonares.

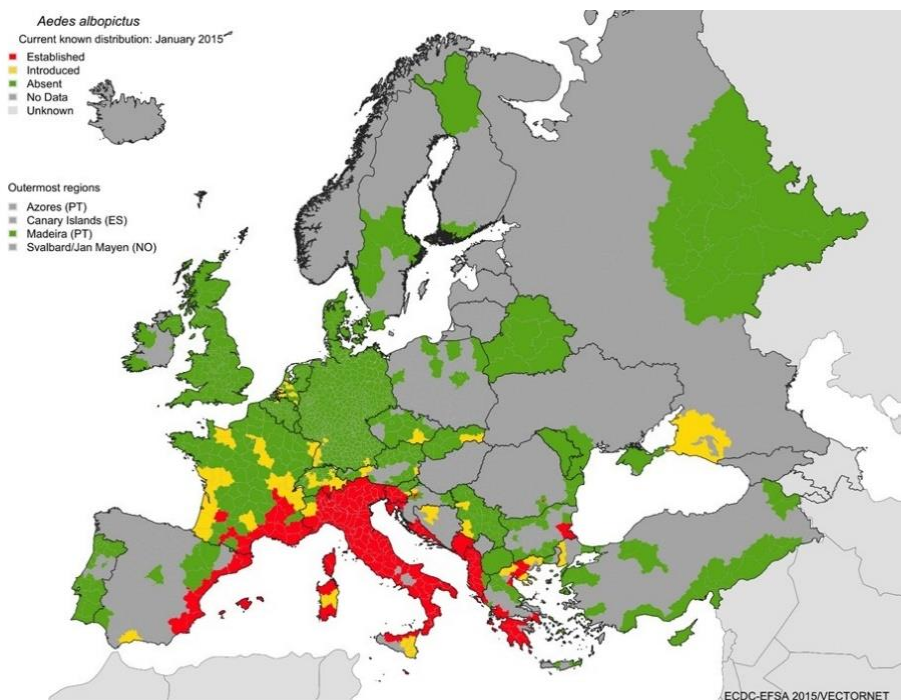


Imagen 6. Distribución de mosquitos del genero *Aedes albopictus* en Europa (Vectornet, 2015)

Parece que algunos controles homeostáticos tienen control sobre la cantidad de microfilarias presentes en sangre periférica, ya que estas no aumentan su número en una infección crónica (Bowman and Atkins, 2009). (Imagen 7)



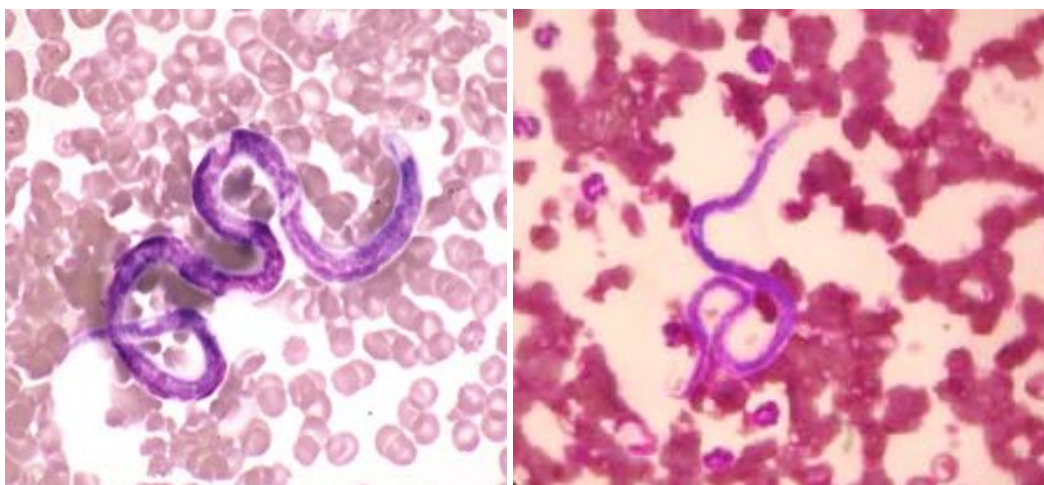


Imagen 7. Microfilaria de *Dirofilaria immitis*. Tinción con hematoxilina-eosina x40. (IDEXX, veterinary diagnostics; Carretón, 2013)

Se ha visto que durante la fase de tratamiento con doxiciclina a perros filarémicos se reduce la tasa de transmisión al bloquear el desarrollo a gusanos adultos de las larvas provenientes de sangre de perros tratados, además de reducir la cantidad de microfilarias circulantes (McCall et al., 2014b).

### 3.6 EPIDEMIOLOGIA

La dirofilariosis es una enfermedad cosmopolita y de distribución mundial, que se localiza en zonas con elevada temperatura y humedad, durante, al menos una parte del año. Estas condiciones ambientales favorecen el desarrollo y mantenimiento de abundantes poblaciones de mosquitos vectores. (Simón et al., 2012).

En Europa, las prevalencias más elevadas se sitúan principalmente en países mediterráneos y del sur, donde la enfermedad es endémica. Además, existen evidencias que demuestran que la dirofilariosis canina se expande en zonas no endémicas, hacia el norte y noreste de Europa (Genchi et al., 2009; Morchon et al., 2012). (Imagen 8)

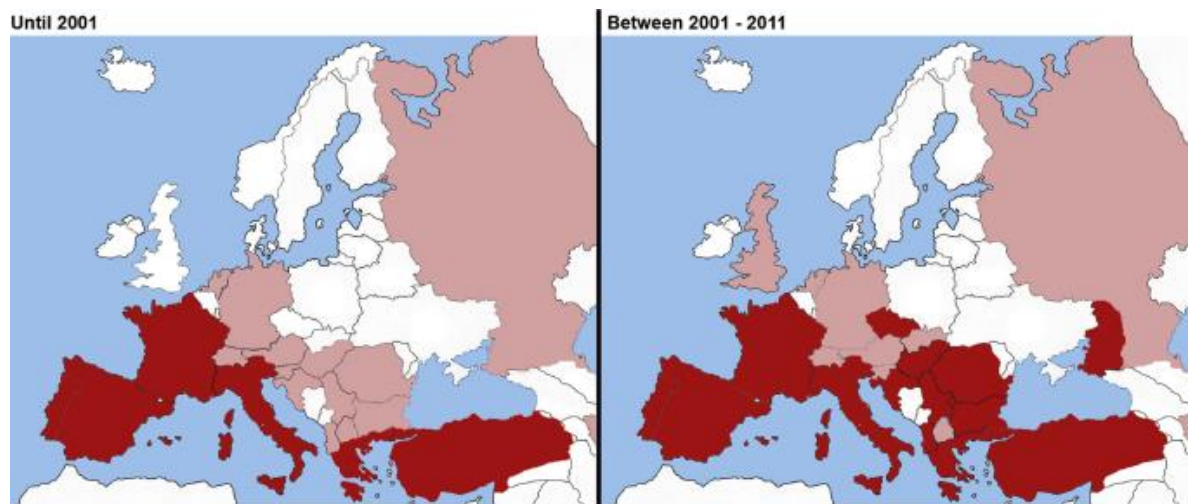


Imagen 8. Comparación de distribución geográfica en Europa de *Dirofilaria immitis* en perros en el periodo 2001-2011. (Morchon et al, 2012)

Dado el complejo movimiento de personas a través de las fronteras de Europa y de sus animales, se han desarrollado modelos de predicción de distribución de dirofilariosis, como ejemplo el modelo del sistema de información geográfica y teledetección, que han permitido pronosticar las condiciones de transmisión de dirofilariosis, en países donde no se tienen las condiciones de desarrollo de las fases de transmisión de la enfermedad. Esto se ha logrado relacionando el incremento de las temperaturas, debido al cambio climático, con el aumento del movimiento migratorio de personas y perros, aumentando el rango geográfico de las infecciones por *D. immitis* (Genchi et al., 2005; Genchi et al., 2011).

Esto ha permitido que el ciclo de transmisión del vector, la distribución enzoótica, y la prevalencia de microfilarias en regiones no endémicas se esté extendiendo. Aunado a esto el aumento de la mancha urbana, ha favorecido la formación de islas de calor; este fenómeno consiste en que edificios y aparcamientos conservan el calor durante el día, creando microambientes capaces de permitir el desarrollo de larvas de *D. immitis* en los mosquitos durante los meses más fríos, lo que alarga la temporada de transmisión (Morchon et al., 2012).

Esto es de interés ya que actualmente la dirofilariosis humana está considerada como una enfermedad parasitaria emergente en Estados Unidos y en Europa (Díaz, 2015).

En Gran Canaria, la prevalencia ha ido disminuyendo paulatinamente, desde los primeros estudios epidemiológicos donde se mostró una incidencia del 59.89% en 1998 del 67.02% en 1994 (Montoya et al., 1998) y del 19% en 2008; este éxito en el declive de la prevalencia se asocia al uso de medidas quimioprolifáticas (Montoya-Alonso et al., 2011). Actualmente, la prevalencia en Gran Canaria se sitúa en el 20.7% siendo el global de las islas Canarias del 15.7% (Montoya-Alonso et al., 2016). (Imagen 9)

### 3.7 FISIOPATOLOGIA

Conocida comúnmente como “enfermedad de gusano del corazón”, este término no hace referencia al sitio real en el que se induce el daño primario, pues son las arterias pulmonares las estructuras afectadas en las etapas iniciales. Únicamente en las fases más crónicas de la enfermedad se puede desarrollar insuficiencia cardiaca derecha, donde el grado de la misma depende del número de parásitos adultos, duración de la enfermedad, y la reacción del huésped a la presencia de los parásitos.



Imagen 9. Prevalencia *Dirofilaria immitis* en Islas Canarias. (Montoya-Alonso J A, et al 2016)



### 3.7.1 Endarteritis pulmonar proliferativa

La presencia de los parásitos adultos en las arterias pulmonares, ocasiona en las células endoteliales cambios en su organización, y estructura, dando lugar a que las uniones intercelulares se hagan más amplias en respuesta al trauma directo por la dirofilaria. Los neutrófilos activados adheridos a la superficie endotelial migran entre las células endoteliales y se produce una activación y adhesión plaquetaria, por el daño al subendotelio, lo que permite a la albumina, líquido plasmático y células sanguíneas alcanzar el espacio perivascular, dando lugar a que leucocitos infiltren la pared arterial, a que las células musculares lisas se multipliquen en la túnica media y migren hacia la superficie endovascular en respuesta a los factores de crecimiento liberados por las plaquetas. Esta multiplicación y migración de músculo liso es la causa de la presencia de vellosidades en la superficie interna de la arteria, compuestas por células de músculo liso y colágeno, cubiertas por células parecidas a las endoteliales ocasionando endarteritis proliferativa (Munnell et al., 1980; Venco et al., 2014a). (Imagen 10)

Además, la dirofilariosis provoca una obstrucción física en la arteria pulmonar que, junto con la acción de la bacteria endosimbionte *Wolbachia pipientis* (Kramer et al., 2008, McCall et al., 2008), también induce la formación de endarteritis de la íntima de las arterias pulmonares. (Imagen 11).

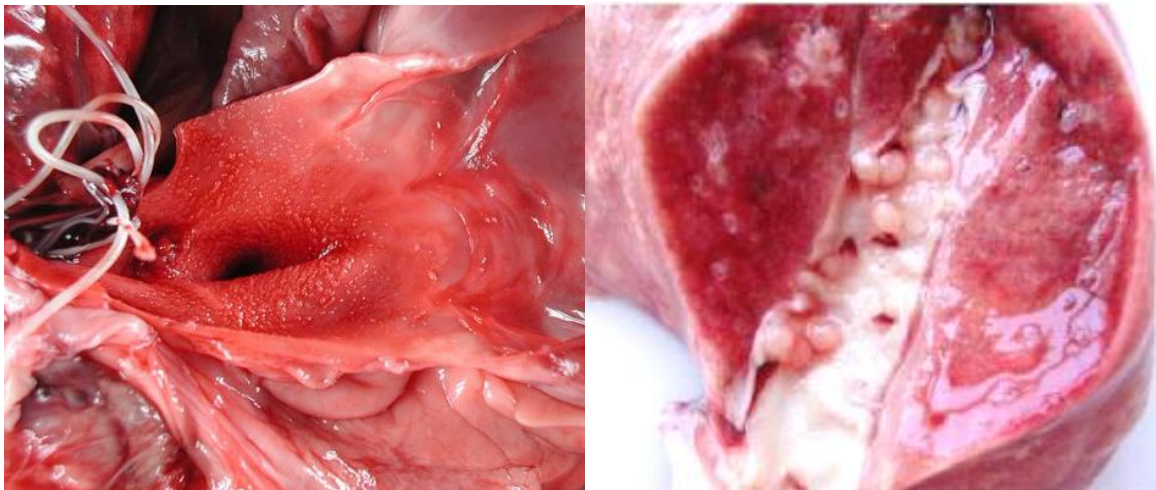


Imagen 10. Endarteritis pulmonar prliflerativa secundario a *Dirofilaria immitis*. (Carreton, 2013).

Existen otros factores desencadenantes donde no solo la carga parasitaria es la causa del desarrollo de endarteritis, ya que sea encontrado que la endotelina 1 y otros factores endógenos, juegan un rol importante en el remodelamiento vascular y vasoconstricción, agravando así la patología por dirofilariosis (Kim et al., 2000; Uchide and Saida, 2005; Gonzalez-Miguel et al., 2015). **Ver apartado 3.12, fisiopatología de hipertensión pulmonar.**

### 3.7.2 Hipertensión pulmonar

La dirofilariosis es considerada una enfermedad que afecta la resistencia vascular pulmonar, aumentando la poscarga, resultado de la vasoconstricción y remodelación vascular (Campbell, 2007), además de la pérdida de distensibilidad de las arterias pulmonares en casos crónicos (Venco et al., 2014b), y la formación de tromboembolismos pulmonares (Sasaki et al., 1992), la presencia de parásitos adultos, la acción inflamatoria de *Wolbachia pipientis*, provocan endarteritis de la íntima de las arterias pulmonares e inducen a que se desarrolle hipertensión pulmonar como enfermedad secundaria (Paradies et al., 2014a).

Al ser una enfermedad de curso crónico, por el desarrollo gradual de la oclusión vascular, permite una extensa circulación colateral en el pulmón que compensa el paulatino aumento de presión. Sin embargo, pueden presentarse casos agudos de hipertensión pulmonar asociados a tromboembolismo pulmonar, secundario a la muerte de dirofilarias adultas, ya sea causada por el tratamiento adulticida o por muerte natural, desarrollando así obstrucción arterial y vasoconstricción (Kramer et al., 2008 Bowman and Atkins, 2009); en esta situación, el desarrollo

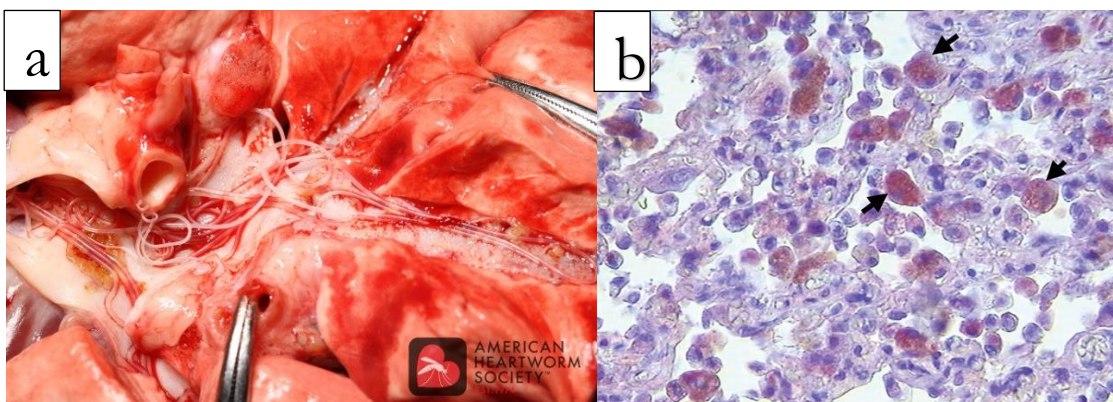


Imagen 11. (a) Presencia macroscópica de filarias adultas en vasculatura pulmonar. (American Heartworm Society 2014); (b) Proteínas de superficie de *Wolbachia pipientis* en pulmón de perro infectado naturalmente. (Simón et al., 2007).

de la patología es de peor pronóstico por la poca capacidad de remodelación del lecho vascular para compensar el aumento de presión súbito (Watts et al., 2010). (Imagen 12)

### 3.7.3 Insuficiencia cardiaca derecha

El ventrículo derecho está adaptado funcionalmente a la circulación pulmonar y sus características estructurales le permiten compensar la sobrecarga de volumen (precarga), pero no adaptarse a un incremento rápido de la resistencia arterial (poscarga). Esto produce que en situaciones crónicas de descompensación hemodinámica se produzca un aumento de la contractilidad e hipertrofia ventricular, mientras se mantiene el diámetro interno (hipertrofia concéntrica) lo que está relacionado con un incremento en la demanda de oxígeno y algunas veces con alteraciones de la circulación coronaria (Hoch and Strickland, 2008; Poser and Guglielmini, 2016). Si el incremento de la presión arterial pulmonar es demasiado alto, este mecanismo compensatorio falla incrementándose el diámetro interno de ventrículo derecho (hipertrofia excéntrica) (Naeije, 2013). Como se demostró en un modelo canino de hipertensión pulmonar crónica, el ventrículo derecho es capaz de mantener el gasto cardíaco incrementando su contractibilidad, así como también el atrio derecho aumenta la distensibilidad para mantener el llenado del ventrículo (Gaynor et al., 2005).

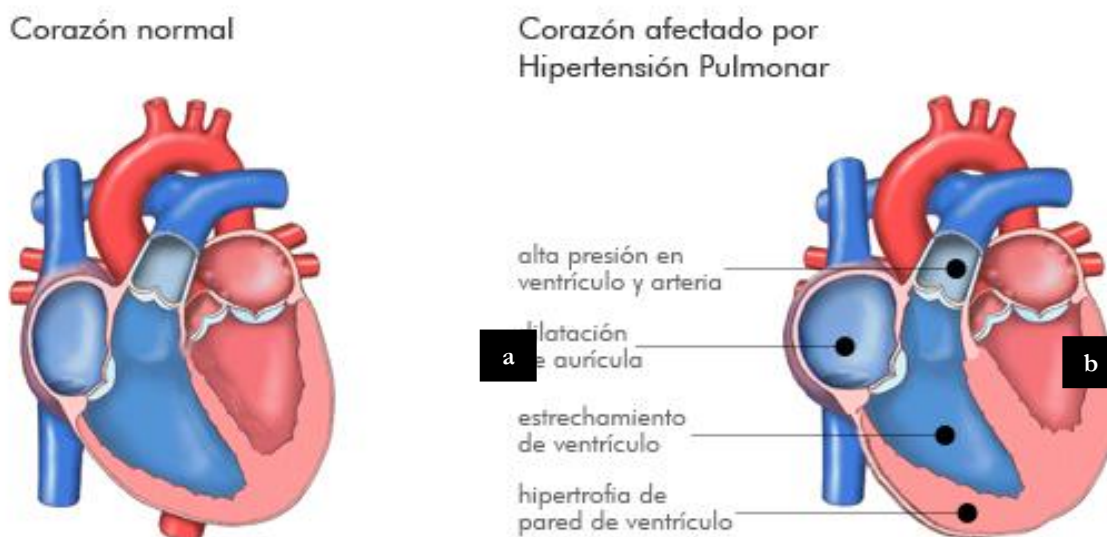


Imagen 12. Cambios presentes en corazón con hipertensión pulmonar.

Los perros con dirofilariosis presentan endarteritis, con el lumen y distensibilidad arteriales reducidos. La reducción de la distensibilidad y del calibre de las arterias pulmonares lleva a un estado pulmonar hipertensivo, desarrollando un incremento en la poscarga del ventrículo derecho lo cual induce cor pulmonale e insuficiencia cardiaca congestiva derecha (Dillon et al., 1995; McCall et al., 2008).

### 3.7.4 Lesiones pulmonares

Durante la infección por dirofilariosis, a nivel pulmonar se observa engrosamiento de la pared alveolar, con infiltración celular siendo más evidente en las áreas obstruidas por *Dirofilaria immitis*, encontrándose material antigénico como microfilarias, filarias fragmentadas en las arterias pulmonares, capilares alveolares y pared alveolar, así como también depósitos de IgG asociado probablemente a la formación de complejos inmunes, lo cual sugiere que durante el desarrollo de la enfermedad mecanismos inmunomediados están involucrados en la presentación de patología pulmonar (Tanaka and Atwell, 1993). Las presentaciones patológicas del infiltrado celular son principalmente generalizadas y en menor medida focales.

Las lesiones pulmonares de carácter generalizado se asocian a neumonitis eosinofílica, que es una reacción inflamatoria inmunomediada inducida por la muerte de microfilarias, provocando la subsecuente reacción inflamatoria (Calvert and Losonsky, 1985). La presentación focal se asocia a granulomatosis eosinofílica, que es parecido a la neumonitis, solo que las microfilarias son rodeadas por neutrófilos y eosinófilos, que eventualmente forman los granulomas los cuales están conformados por células epiteliales, macrófagos y eosinófilos (Confer et al., 1983). Se ha observado en perros expuestos a *Dirofilaria immitis* neumonitis intersticial, donde la reacción arterial y periarterial es más intensa y con un estado más avanzado de organización (Atwell et al., 1988).

La bacteria endosimbionte *Wolbachia spp* influye en la patología pulmonar, ya que se ha observado presencia de trombos asociados a intensa inflamación perivascular e intersticial en perros positivos a dirofilaria experimentalmente y sin tratamiento, mientras que perros que recibieron tratamiento conjunto de doxiciclina, ivermectina y melarsomina, mostraron lesiones arteriales menos severas con virtual ausencia de trombos (Kramer et al., 2008).

Cuando se administra doxiciclina e ivermectina se ha observado un menor riesgo de tromboembolismos y muerte durante el posterior tratamiento adulticida (McCall, 2005; Bazzocchi et al., 2008b). Se ha reportado en estudios previos que la respuesta de anticuerpos IgG es más fuerte en perros microfilarémicos que en amicrofilarémicos, así como en aquellos donde mostraron presencia de tromboembolismos o muerte de microfilarias post-tratamiento, por lo que se asocia a una mayor respuesta inmune tomando un papel importante en el desarrollo de la enfermedad (Simón et al., 2012).

### 3.7.5 Tromboembolismo pulmonar

Las lesiones focales del parénquima pulmonar son más comunes que la enfermedad pulmonar generalizada, y se relacionan con la muerte de los parásitos post-tratamiento o por su muerte espontánea, generando tromboembolismos pulmonares. La tromboembolización agrava el desarrollo de hipertensión pulmonar e insuficiencia cardíaca derecha, y en raras ocasiones puede ser causa de infarto pulmonar. Los parásitos muertos son arrastrados por el flujo sanguíneo hacia los vasos de menor calibre, empeorando el daño vascular y aumentando la coagulación, lo que restringe más el flujo sanguíneo pulmonar pudiendo desarrollar consolidación de los lóbulos afectados. (Imagen 13)

Cuando sucede una muerte aguda y masiva de parásitos, el daño puede ser mayor, particularmente cuando se asocia con ejercicio. La exacerbación de la enfermedad que acompaña al ejercicio parece reflejar el flujo pulmonar aumentado, con liberación de mediadores inflamatorios en el parénquima pulmonar, a través de las arterias dañadas y permeables. Por ello, se ha sugerido que el daño pulmonar inducido por los parásitos desintegrados es similar a lo visto en el síndrome de distrés respiratorio adulto en humanos (Bowman and Atkins, 2009).

Existe correlación entre la muerte natural de dirofilarias con la presentación de tromboembolismos, seguido de la elevación de la presión arterial pulmonar y el desarrollo de signos clínicos (Sasaki et al., 1992), lo que supone un factor determinante en la patología, el manejo y monitorización adecuado del factor desencadenante de los tromboembolismos.



En la actualidad se utilizan biomarcadores para monitorizar posibles complicaciones en pacientes durante el tratamiento y post-tratamiento adulticida, como proteínas de fase aguda y el dímero-D (Carreton et al., 2014b; Mendez et al., 2015).



Imagen 13. Estudio radiográfico lateral izquierda-derecha, con signos radiográficos de tromboembolismo pulmonar.

El dímero-D es el principal producto de la degradación de la fibrina por la plasmina, y es generado en el paso final de la formación de trombos, siendo útil en el diagnóstico no invasivo de trombosis venosa profunda y tromboembolismo pulmonar ya que se eleva en la presencia de trombosis aguda (Konstantinides et al., 2014). (Imagen 14)

Entre las proteínas de fase aguda, la que mejores resultados ha presentado es la proteína C reactiva. Esta es una globulina de síntesis hepática presente en plasma que se eleva en procesos infecciosos y en condiciones inflamatorias (Brito et al., 2015).

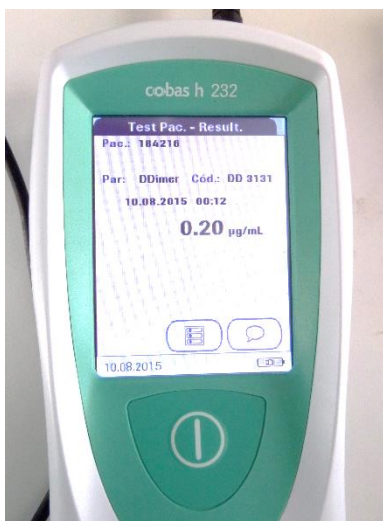


Imagen 14. Medición de dímero-D, en un perro con evidencia radiográfica de tromboembolismo pulmonar por dirofilariosis cardiopulmonar.

Existen evidencias de aumento de la proteína C reactiva post-tratamiento con melarsomina, sobre todo en perros con gran carga parasitaria, lo cual se puede asociar con la inflamación pulmonar y tromboembolismo. Se obtuvieron datos donde muestran una disminución de la proteína C reactiva tras el tratamiento con doxiciclina e ivermectina, lo que sugiere un papel importante de *Wolbachia spp* y la microfilaremia en el desarrollo del proceso inflamatorio en la dirofilariosis y sus complicaciones (Mendez et al., 2015).

### 3.7.6 Alteraciones renales

En perros con presentación crónica de dirofilariosis, puede presentarse glomerulonefritis membranosa (Abramowsky et al., 1981), que puede desarrollar nefrosis grave con proteinuria y posterior azotemia por insuficiencia renal, secundaria al depósito de complejos inmunes antígeno-anticuerpo, presencia de microfilarias en los capilares glomerulares y vasos medulares ocasionando infiltrados inflamatorios en glomérulos, engrosamiento de la membrana basal glomerular y deposición de fibrina, con proliferación celular mesangial y endotelial. (Grauer et al., 1989; Nakagaki et al., 1993; Kamiie et al., 2000). Al morir, las microfilarias liberan *Wolbachia spp* que produce mayor inflamación y una respuesta inmune específica (Aresu et al., 2007; Morchon et al., 2012).

La glomerulonefritis causa un aumento de permeabilidad con la consecuente proteinuria, constituida principalmente por albúmina, transferrina, inmunoglobulinas y antitrombina III; la pérdida de antitrombina tiene un papel importante en el estado de hipercoagulabilidad, por lo que parece que la activación plaquetaria está relacionada en la patogénesis de la enfermedad (Diessler and Amo, 1999; Ettinger and Feldman, 2009c). En casos con enfermedad avanzada de dirofilariosis se ha observado nefritis intersticial, con necrosis y depósitos de hemosiderina con degeneración tubular (Monlux, 1953; Shirota et al., 1979).

### 3.7.7 Otras alteraciones

Aunque raras veces se han descrito complicaciones derivadas de la presencia de filarias, en localizaciones aberrantes tan diversas como el sistema nervioso central y en espacio epidural,

cámara anterior del ojo, abdomen, corazón izquierdo, arterias sistémicas como aorta, quistes y abscesos musculares y subcutáneos, bronquios e hígado, siendo la sintomatología dependiente de las vías de migración de la filaria. (Imagen 15). (Kotani et al., 1975; Hamir, 1987; Blass et al., 1989; Goggin et al., 1997; Oh et al., 2008; Brener et al., 2012; Grimes et al., 2016).

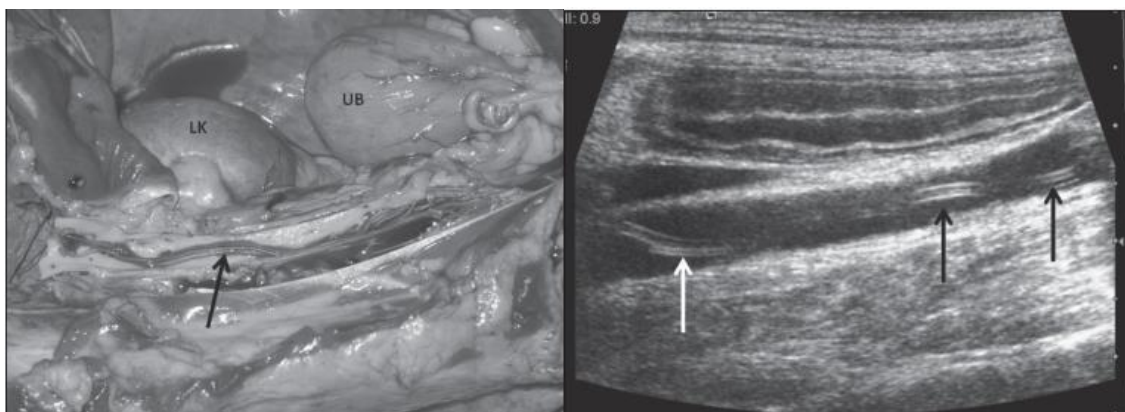


Imagen 15. a) Necropsia mostrando gusanos de *D. immitis* en aorta abdominal; b) Imagen ecográfica mostrando *D. immitis* en aorta. (Grimes 2016.)

### 3.8 SIGNOS CLINICOS

Inicialmente los perros infestados por dirofilariosis no muestran sintomatología durante la fase de migración y maduración de las larvas, atribuyéndose los signos clínicos a la presentación crónica de la enfermedad, de tal forma que su aparición es paulatina. La presentación de los signos depende de la carga parasitaria, cronicidad y la actividad física. Los primeros signos que refieren los propietarios son tos crónica no productiva, que se acentúa después del ejercicio. En fases avanzadas se puede presentar disnea o taquipnea, que se puede relacionar con presencia de congestión venosa pulmonar o hipertensión pulmonar.

Otros signos relacionados pueden ser intolerancia al ejercicio, apatía, pérdida de masa corporal, efusión pleural y la presencia de síncope. Se presenta hemoptisis y/o epistaxis cuando las arterias pulmonares afectadas desarrollan aneurismas y la tos precipita la ruptura de vasos.

Durante la auscultación pulmonar se pueden percibir estertores difusos bilaterales sobre las áreas de lóbulos caudales, asociadas con granulomatosis eosinofílica, aunque puede existir enfermedad pulmonar sin alteraciones a la auscultación. A la auscultación cardiaca, puede existir



soplo sistólico con punto de mayor intensidad en la región apical derecha, relacionado con insuficiencia tricuspídea por hipertensión pulmonar, además de la presencia de soplo diastólico pulmonar, secundario a insuficiencia pulmonar.

En perros que desarrollan insuficiencia cardíaca congestiva derecha y síndrome de vena cava, se observa distensión y pulsación yugular, con presencia de hepatomegalia, esplenomegalia y ascitis. (Imagen 16). La presentación de arritmias no es habitual ya que menos del 10 % de perros presentan desordenes de la conducción cardíaca (Lombard and Ackerman, 1984; Dillon et al., 1995; Mupanomunda et al., 1997; Venco et al., 2001; Hoch and Strickland, 2008; Bowman and Atkins, 2009).



Imagen 16. Paciente con signología de insuficiencia cardíaca congestiva derecha secundario a dirofilariosis cardiopulmonar canina.

### 3.9 DIAGNÓSTICO

El test serológico de detección de antígenos es el test de elección para diagnóstico de dirofilariosis. Existen kits comerciales disponibles basados en técnicas de ELISA o inmunocromatografía, los cuales detectan antígenos del tejido ovárico de hembras adultas. (Courtney and Cornell, 1990). (Imagen 17)

Los test tienen una especificidad muy elevada cercana al 100%, por lo que presenta muy baja posibilidad de presentar reacciones cruzadas con otras dirofilarias

. Gracias a su elevada sensibilidad, la presencia de una sola hembra adulta es suficiente para la detección de antígenos.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DIROFILARIOSIS

Resultados falsos positivos son poco frecuentes y se relacionan a un inadecuado manejo del test, o a que la lectura del test se haya retrasado más tiempo del recomendado por el fabricante (Wang, 1998; McCall et al., 2001b; Atkins, 2003; Lee et al., 2011).



Imagen 17. Ejemplo de pruebas serológicas de antígeno para diagnóstico de *Dirofilaria immitis*.

Por otro lado, los resultados falsos negativos pueden suceder en situaciones diversas, ya sea por baja carga parasitaria, filarias inmaduras o muy viejas, reacción inmune antígeno-anticuerpo específica frente a *Dirofilaria immitis*, presencia de filarias machos únicamente y errores en el manejo y realización del test, por lo que se recomienda seguir las instrucciones del fabricante; en caso de duda ante este tipo de resultados la recomendación es repetir el test. (McCall, 2005; American Heartworm Society, 2014).

Se ha descrito el uso de calor en suero o plasma, para descartar falsos negativos secundarios a la respuesta antígeno-anticuerpo, donde se encontró un 7.1% positivo (11 de 154 muestras) después de dicho procedimiento, así como un 13.9% (14 de 101 muestras) con una densidad óptica mayor (mayor color) que el test previo al calentamiento, por lo que podría haberse recomendado su uso en caso de dudas al momento de realizar el test de antígeno (Little et al., 2014; Velasquez et al., 2014).

Pueden existir diferencias en la sensibilidad dependiendo de la cantidad de parásitos adultos o la cantidad de antígenos circulantes, por lo que la intensidad del color de un test positivo no es confiable para determinar la severidad de la enfermedad o la carga parasitaria, ya que puede

existir mayor cantidad de antígenos de forma transitoria, secundario a la muerte un parásito por ejemplo (Grieve and Knight, 1985; Courtney and Zeng, 1987).

### 3.9.1 Microfilarias

El detectar microfilarias en sangre siempre debe considerarse como un método complementario. Esto es debido a que pueden encontrarse microfilarias circulantes no pertenecientes a *D. immitis*. Además, en algunos casos de dirofilariosis puede no encontrarse microfilarias circulantes, debido a la parasitación por un solo sexo, inmadurez de los parásitos, localización ectópica, dirofilarias de edad avanzada, aplicación de tratamiento preventivo, o por muerte de parásitos adultos. Sin embargo, en casos que se presenten resultados falsos negativos para antígeno por la formación de complejos antígeno-anticuerpo, el observar la presencia de microfilarias circulantes es de gran utilidad (Velasquez et al., 2014).

Dentro de las diferentes técnicas para visualizar microfilarias se utiliza la observación directa, llamada de “gota gruesa”. Con este método se examina directamente una gota de sangre fresca al microscopio, donde se observan las microfilarias vivas, con un movimiento ondulante y no progresivo. Otras filarias que se pueden encontrar de manera común son *Acanthocheilonema reconditum*, *Dirofilaria repens* y *Acanthocheilonema dracunculoides*. Otro método utilizado se basa en el uso de un tubo de microhematocrito centrifugado (test de Woo) donde se visualizan las microfilarias concentradas en la capa flogística (Kelly, 1973; Ettinger and Feldman, 2009a).

Otros métodos son los llamados test de concentración como el test de filtración y test de Knott, los cuales permiten teñir las microfilarias para su posterior observación, siendo este último el test de referencia para determinar la morfología de microfilarias circulantes (Knott, 1939). El test de Knott permite distinguir morfológicamente entre *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* y *Acanthocheilonema spp*, pero la diferencia entre las dos últimas necesita el empleo de técnicas moleculares o bioquímicas para su identificación, por el rango de tamaño parecido (Magnis et al., 2013).

Aunque dicho método puede que no sea preciso, debido principalmente a la interpretación del observador. También se puede emplear la identificación de microfilarias con la

técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR), la cual puede ser de gran utilidad para los casos de test de antígeno negativo (Casiraghi et al., 2006; Rishniw et al., 2006; Oi et al., 2015).

En un estudio en el que se comparó la sensibilidad de diagnóstico para microfilarias de *D. immitis* por el método del test de Knott y de gota fresca en 150 perros a nivel de campo se demostró que ambos métodos son comparables en términos diagnóstico. (Marcos et al., 2016).

De la misma forma, en otro estudio con 70 perros se determinó la correlación entre el método del test de Knott, el test del método cuantitativo de tubo de microhematocrito (test de Woo) y de gota fresca, y se observó una sensibilidad de 100%, 98% y 92.3% respectivamente. En los métodos mencionados anteriormente, la utilidad del método de la gota fresca por la facilidad y sensibilidad del procedimiento lo hace más práctico, siendo el test de Knott la prueba estandar para diferenciación de la morfología de las microfilarias (Mylonakis et al., 2004).

Otro método de fácil aplicación y confiable, que permite la diferenciación más precisa es el método histoquímico de la fosfatasa ácida, el cual se basa en identificar la morfología y la distribución somática de las regiones de actividad de fosfatasa ácida que las diferentes microfilarias presentan, tiñéndose de color rojo el poro excretor, poro anal y/o la totalidad del parásito. En el caso de *D. immitis*, las microfilarias presentan actividad fosfatasa en su poro excretor y poro anal (Chalifoux and Hunt, 1971; Acevedo et al., 1981).

### 3.9.2 Radiología

La radiografía está considerada como un método diagnóstico de apoyo y de gran utilidad para evaluar la severidad de la enfermedad, además de monitorizar los cambios secundarios al tratamiento, ya sea a nivel de campos pulmonares, silueta cardiaca y grandes vasos, específicamente en cámaras derechas y arteria pulmonar principal y periféricas, ayudando al clínico en el momento de la toma de decisiones terapéuticas (Bahr, 2009).

Se estima que un 85% de casos positivos a dirofilariosis presentan cambios radiológicos (Bowman and Atkins, 2009) por lo que el estudio radiográfico debe realizarse de manera rutinaria en el momento del diagnóstico, durante la fase de tratamiento y al final del mismo, independientemente de las alteraciones encontradas en el examen clínico, para obtener una aproximación objetiva de las alteraciones cardiopulmonares.

Los cambios radiográficos observados en la dirofilariosis canina varían principalmente en función de la duración y severidad de la enfermedad, y circunstancias individuales como la actividad física (Dillon et al., 1995). Los cambios radiográficos observables son: dilatación del ventrículo derecho, dilatación del atrio derecho (menos habitual), y dilatación de arteria pulmonar principal y arterias pulmonares periféricas adoptando un aspecto tortuoso (Quinn and Williams, 2011b).

Los cambios en el parénquima pulmonar se asocian con la formación de tromboembolismos pulmonares y con el aumento de la permeabilidad vascular (Calvert and Rawlings, 1985; Ackerman, 1987; Litster and Atwell, 2008; Bowman and Atkins, 2009)

En la proyección ventrodorsal y/o dorsoventral, ratios de arteria pulmonar caudal derecha/ancho de 9º costilla mayores a 1 se consideran anormales (Tudor et al., 2014; Oui et al., 2015) siendo esto frecuente en dirofilariosis (Litster et al., 2005a). Según Bahr (2009), de forma visual la superposición de estas estructuras forma una sombra que en perros normales debe tener lados iguales. Si la arteria está aumentada, el eje largo de la sombra será horizontal. En la proyección latero-lateral, al evaluar las arterias del lóbulo craneal, estas no deben de ser mayores a 1.2 veces el tamaño de la cuarta costilla en su porción más proximal (Thrall and Losonsky, 1976).

Para evaluar la arteria pulmonar principal, la proyección indicada es la proyección ventrodorsal y/o dorsoventral, donde se observa una dilatación, utilizando la analogía de horas de reloj en posición de la 1. Para evaluar dilatación del ventrículo derecho, en la vista latero-lateral se aprecia aumento del contacto cardioesternal, con pérdida de la cintura craneal, así como aumento de la silueta cardíaca; de manera normal, el contacto cardioesternal medido por espacios intercostales no debe pasar de 2.5-3 espacios, aunque se deben de tomar en cuenta las diferencias por la configuración del tórax. En la proyección dorsoventral/ventrodorsal el ventrículo derecho se redondea y desplaza más hacia el hemitórax derecho, observándose lo que se llama signo de “D invertida” (Bahr, 2009). El índice cardiovertebral también puede ser útil para evaluar objetivamente la silueta cardíaca y la presencia de cardiomegalia asociada a la severidad y evolución de la dirofilariosis (Litster et al., 2005a).

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DIROFILARIOSIS

Su uso es de gran utilidad en especial durante la fase del tratamiento, tomando en consideración que la severidad y cambios radiográficos son mayores en relación con los signos clínicos (Ackerman, 1987; Buchanan and Bucheler, 1995; Kim, 1995; Litster et al., 2005).

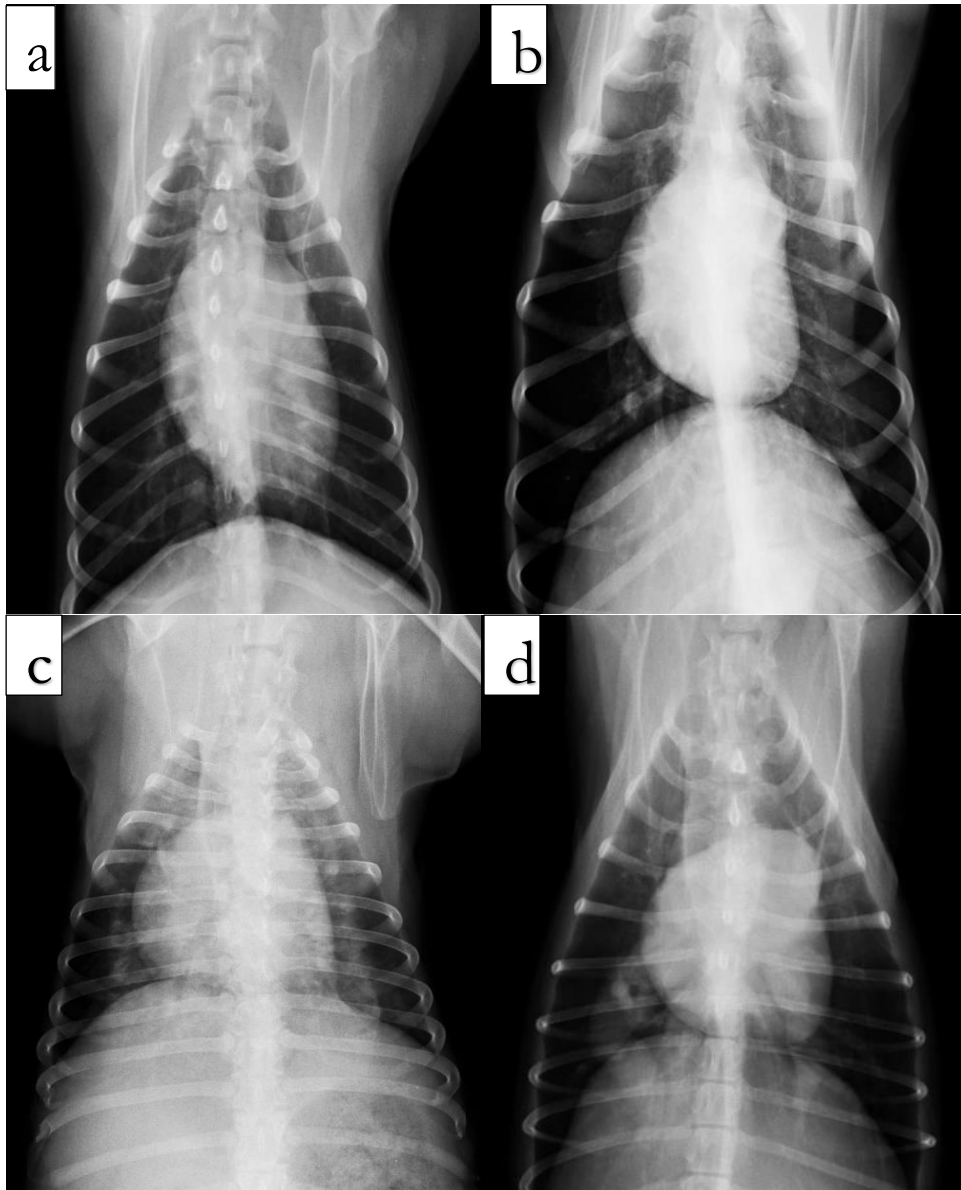


Imagen 18. Estudios radiográficos donde se aprecian el desarrollo de los cambios secundarios a dirofilariosis cardiopulmonar, donde la imagen (a) corresponde a paciente sin cambios vasculares o pulmonares aparentes; la imagen (b) corresponde a un paciente con enfermedad leve; la imagen (c) corresponde a paciente con enfermedad moderada; y la imagen (d) corresponde a paciente con enfermedad severa.



Los cambios en parénquima pulmonar se relacionan principalmente con tromboembolismos pulmonares, causados por parásitos muertos o coágulos secundarios a los eventos inflamatorios por obstrucción de las arterias. Se aprecia un aumento de densidad focal o multifocal adyacente a las arterias pulmonares afectadas, como infiltrados perivasculares, donde el patrón puede ser leve, moderado o severo dependiendo de la etapa de la enfermedad (Holmes et al., 1992; Bowman and Atkins, 2009; Tudor et al., 2014). (Imagen 19)

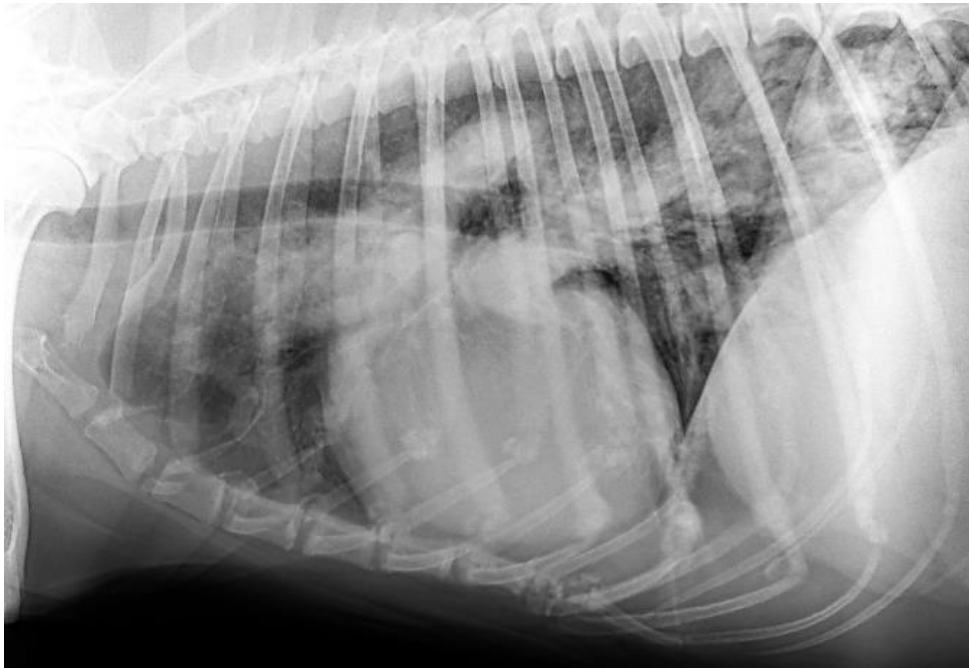


Imagen 19. Estudio radiográfico L1 izq-L1 dech, con cambios compatibles a tromboembolismo pulmonar secundario a dirofilariosis cardiopulmonar.

Se ha propuesto una clasificación subjetiva para clasificar la dirofilariosis en 4 grados de severidad, guiándose por los cambios radiográficos mediante un estudio radiológico simple en proyección latero-lateral izquierda (Venco et al., 2001):

1. Sin presencia de cambios vasculares y/o parénquima pulmonar.
2. Presencia de lesiones en parénquima (patrón broncoalveolar), sin evidencia de lesión vascular.
3. Enfermedad pulmonar arterial moderada con ligera dilatación de, al menos, una arteria interlobar, mayor que la vena correspondiente.

4. Enfermedad pulmonar arterial severa, con dilatación y tortuosidad evidente de arterias pulmonares lobares craneales y de la arteria pulmonar principal. (Imagen 18)

Durante la fase inicial de desarrollo de la enfermedad se observan signos radiográficos menos severos, desarrollándose gradualmente la severidad de dichos signos. Estos cambios también pueden ser más evidentes después del tratamiento adulticida, por el desarrollo de tromboembolismos secundario a la muerte de los parásitos. Se ha descrito que las lesiones se observan durante los primeros seis meses post-tratamiento o hasta diez meses desde el diagnóstico inicial y disminuyen su severidad gradualmente; no obstante, si las lesiones pulmonares persisten se relacionan con la persistencia de dirofilariosis (Rawlings et al., 1981; Mavropoulou et al., 2014a; Tudor et al., 2014).

### 3.9.3 Ecocardiografía

La ecocardiografía en la dirofilariosis es una herramienta de diagnóstico que permite determinar cambios estructurales y funcionales a nivel de cámaras cardíacas derechas y en arteria pulmonar, así como valorar la evolución durante todo el proceso de enfermedad. Los cambios crónicos que producen remodelación cardíaca y alteraciones de la vasculatura, permiten evaluar la evolución de forma objetiva aún en pacientes sin evidencias de signos clínicos o radiográficos en las fases iniciales de la dirofilariosis.

Mediante la ecocardiografía se pueden observar las filarias adultas, las cuales presentan una imagen en forma de dos líneas hiperecoicas paralelas. Sin embargo, su observación mediante esta técnica no es un método diagnóstico efectivo ya que no siempre es posible su visualización directa. Las filarias adultas se sitúan principalmente en las ramas periféricas de las arterias pulmonares, por lo que en casos de baja carga parasitaria es posible no observarlas, ya que salen del campo visible ecográficamente. Por otro lado, en pacientes con elevada carga parasitaria se pueden observar en arteria pulmonar derecha, izquierda, arteria pulmonar principal y ventrículo derecho.

El determinar de forma objetiva el número exacto de parásitos mediante ecocardiografía no es posible, debido a que en la misma imagen ecográfica se puede estar observando varios cortes



de un mismo parásito, que por su disposición y longitud puede dar imagen de múltiples parásitos. Por otro lado, los artefactos pueden conducir a un falso diagnóstico positivo (Quinn and Williams, 2011b; Paradies et al., 2014).

Se ha propuesto una clasificación según la carga parasitaria, basada en una puntuación de 1 (baja carga) a 4 (alta carga), de acuerdo a las características de visualización de los parásitos en las arterias pulmonares (Venco et al., 2001):

1. No se visualizan parásitos.
2. Visualización de parásitos en la parte distal de arteria pulmonar derecha. (Imagen 20)
3. Visualización de parásitos ocupando arteria pulmonar derecha y extendiéndose hasta arteria pulmonar principal. (Imagen 21)
4. Visualización de parásitos ocupando toda la arteria pulmonar derecha y arteria pulmonar principal a nivel de la válvula pulmonar. (Imagen 22)

En los perros que presentan una alta carga parasitaria con síndrome de vena cava, las dirofilarias pueden observarse en el ventrículo y atrio derecho, vena cava craneal y caudal y, en casos donde se produzca tromboembolismos, también es posible observarlos en arterias pulmonares (Sasaki et al., 1992; Kittleson, 1998; Hidaka et al., 2003; American Heartworm Society, 2014).

Los cortes ecocardiográficos establecidos para poder determinar la presencia de filarias son: corte transversal transaórtico, para observar la arteria pulmonar principal, tracto de salida del ventrículo derecho, válvula pulmonar y arteria pulmonar derecha e izquierda, a través la ventana paraesternal derecha, y corte oblicuo desde el anterior para observar la arteria pulmonar derecha hacia distal (Thomas et al., 1993; Boon, 2012).

En modo B se pueden apreciar inicialmente modificaciones secundarias a los cambios de presión en el ventrículo derecho como son engrosamiento de la pared del septo interventricular y pared libre ventricular derecha, así como dilatación de arterias pulmonares. En casos donde se ha desarrollado hipertensión pulmonar, también se puede observar aplanamiento septal con movimiento paradójico del septo interventricular. Es común observar dilatación del ventrículo

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DIROFILARIOSIS

derecho en casos de enfermedad severa, perdiendo su proporción normal en relación al ventrículo izquierdo (Tai and Huang, 2013). (Imagen 23)

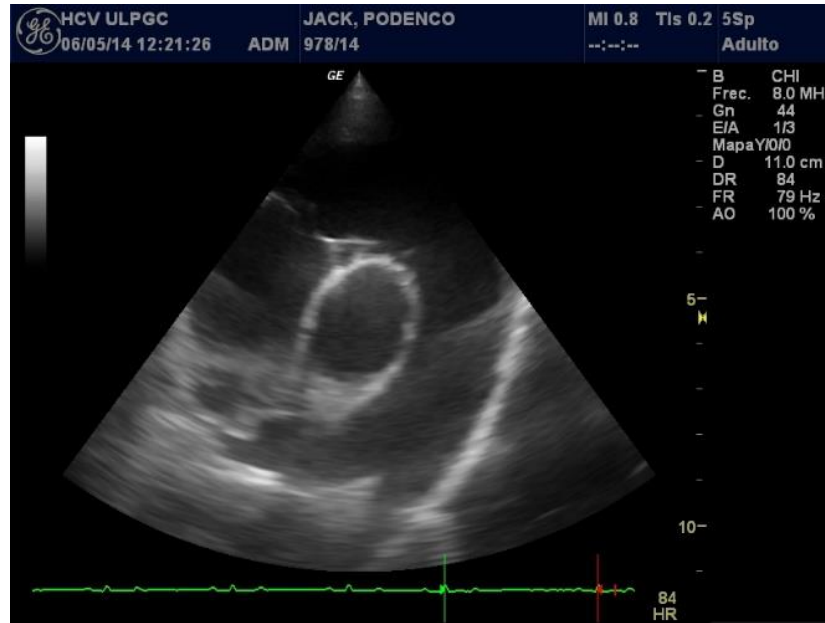


Imagen 20. Corte transversal transaórtico a nivel de válvula pulmonar, con evidencia de filarias adultas en arteria pulmonar derecha.

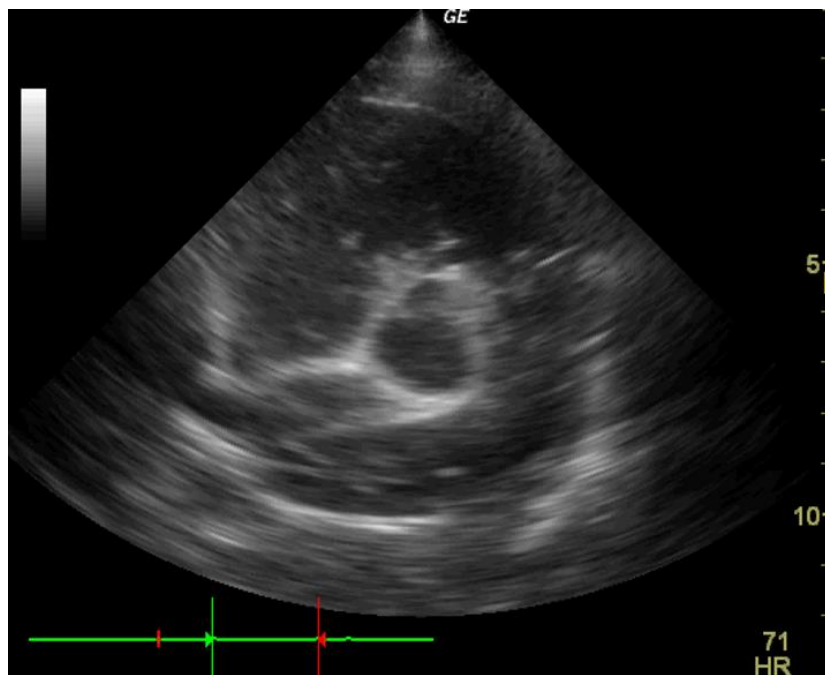


Imagen 21. Corte transversal transaórtico de arteria pulmonar principal y derecha, con presencia de filarias adultas en atrio y ventrículo derecho, además de arteria pulmonar derecha y pulmonar principal.

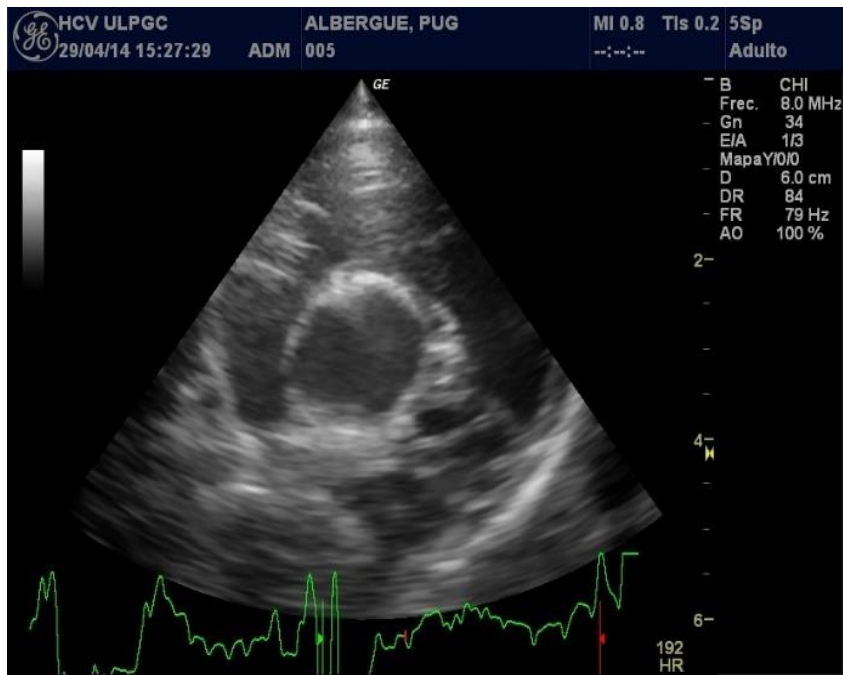


Imagen 22. Corte transversal transaórtico de arteria pulmonar, donde se aprecia, estructuras hiperecoicas sugerentes de filarias adultas en arteria pulmonar principal y derecha.

En modo Doppler espectral y color, los cambios observados son aumento de la velocidad del flujo pulmonar y por tanto creación de un gradiente de presión, regurgitación pulmonar y tricuspídea, además de cambios en el perfil de pico sistólico pulmonar (Kellihan and Stepien, 2012b).

La endarteritis conlleva a un aumento progresivo de la presión arterial pulmonar, secundario a una reducción de la elasticidad del lecho vascular pulmonar, lo cual termina desarrollando hipertensión pulmonar. Para evaluar estos cambios en la vasculatura pulmonar, mediante ecocardiografía se evalúa el índice de distensibilidad de la arteria pulmonar derecha, índice que se ha utilizado como un método útil para evaluar el grado de hipertensión pulmonar, aun en ausencia de flujo regurgitante tricuspídeo (Venco et al., 2014b; Visser et al., 2016).

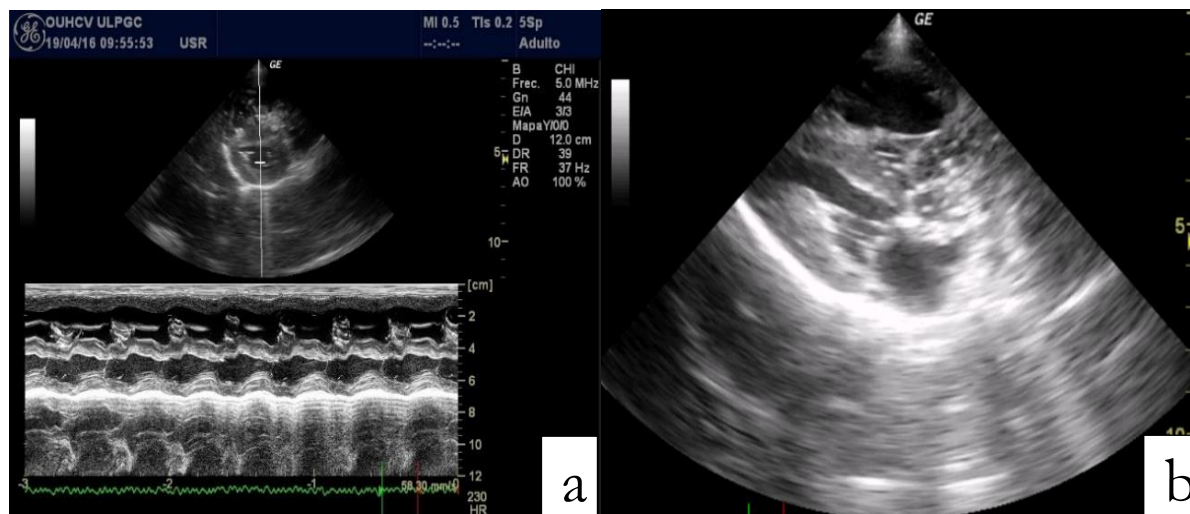


Imagen 23. Hipertrofia excéntrica de ventrículo derecho (VD) secundaria a dirofilariosis cardiopulmonar canina. (a) Imagen ecocardiográfica en corte transversal de ventrículo izquierdo (VI) observándose dilatación evidente de VD en relación a ventrículo izquierdo y aplanamiento septal; (b) Imagen ecocardiográfica en corte longitudinal, con presencia de filarias adultas en atrio derecho, en mismo paciente.

### 3.9.4 Electrocardiografía

La electrocardiografía para el diagnóstico de dirofilariosis permite determinar la presencia de arritmias y agrandamiento de ventrículo derecho. Las arritmias más frecuentes que suelen observarse son bloqueo de rama derecha y complejos atriales y ventriculares prematuros. Asimismo, los cambios observables en el trazado electrocardiográfico son compatibles con agrandamiento de ventrículo derecho pudiendo aparecer desviación del eje eléctrico medio hacia la derecha. Si bien la presentación de arritmias es poco usual, pueden generarse en casos de enfermedad moderada a severa, síndrome de vena cava, insuficiencia cardíaca e hipertensión pulmonar (Hoch and Strickland, 2008; Atkins, 2009). (Imagen 24)

Se ha estudiado la correlación de los métodos descritos previamente (radiología, ecocardiografía y electrocardiografía) y los resultados señalan que la incidencia de hipertrofia ventricular derecha medida por electrocardiografía mostró correlación con el incremento de ventrículo derecho por radiología; también se observaron cambios electrocardiográficos en perros con dirofilariosis moderada a severa estimada por ecocardiografía (Lombard and Ackerman, 1984).

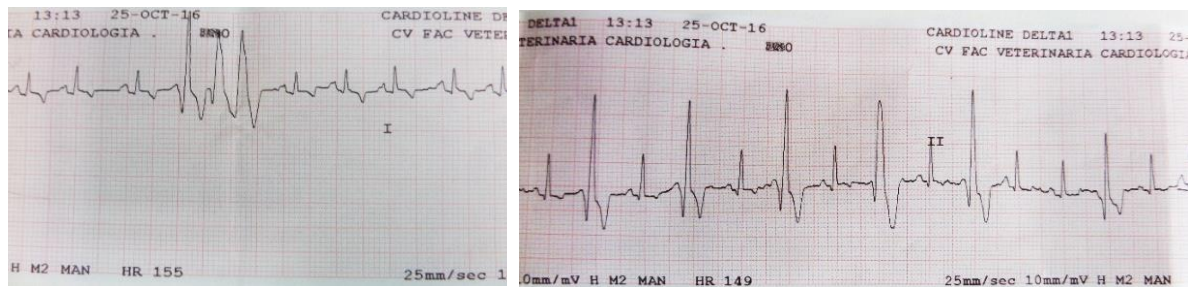


Imagen 24. Electrocardiogramas con presencia arritmias en perros con dirofilariosis cardiopulmonar.

### 3.9.5 Pruebas de laboratorio

En dirofilariosis, los cambios hematológicos y anomalías bioquímicas no son prácticos como referentes diagnósticos. No obstante, son de utilidad para evaluar enfermedades concomitantes, estén o no relacionadas a la dirofilariosis (Atkins, 2009).

Las alteraciones hematológicas más comunes incluyen anemia no regenerativa, neutrofilia, eosinofilia, basofilia y trombocitopenia, observándose en la fase de tratamiento un aumento de los eosinófilos (Rawlings, 1982). En el caso de dirofilariosis oculta (amicrofilarémicos) se ha encontrado neutrofilia, la cual se asocia a la actividad inmunológica frente a las microfilarias a nivel vascular, y eosinofilia por la presencia de microfilarias circulantes (Snyder et al., 1967; Gossett et al., 1987). La anemia suele ser de leve a moderada, con disminución en los niveles de hemoglobina y aumento de los tiempos de sedimentación de los eritrocitos; también se ha observado presencia de trombocitopenia moderada a severa (Niwetpathomwat et al., 2007).

La elevación de las enzimas hepáticas como ALT y AST, azotemia e hiperbilirrubinemia es posible en pacientes con enfermedad severa. En el urianálisis, puede observarse proteinuria con albuminuria por el desarrollo de glomerulonefritis en casos de enfermedad severa (Sharma and Pachauri, 1982; Nduka, 1985; Atkins, 2009; Bowman and Atkins, 2009). En el caso de presentarse insuficiencia cardíaca congestiva, se puede observar aparición de ascitis con trasudado modificado (Atkins, 2009).

En caso de presentarse síndrome de vena cava, los cambios incluyen anemia hemolítica por hemolisis intravascular, debido a la ruptura que provoca el contacto de los eritrocitos pasando a través de las dirofilarias situadas en el atrio derecho y vena cava, y por la fragilidad de la membrana del eritrocito (Atwell and Farmer, 1982). (Imagen 25)

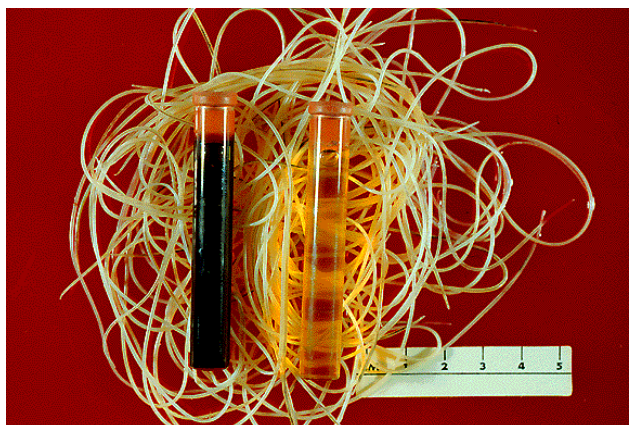


Imagen 25. Hemoglobinuria secundaria a dirofilariosis cardiopulmonar, en caso de síndrome de vena cava, comparado con una muestra normal. (<http://cal.vet.upenn.edu>)

En estos pacientes se desarrolla hemoglobinemia, hemoglobinuria, acidosis metabólica, disminución de la función hepática y renal con aumento de enzimas hepáticas e hiperbilirrubinemia, leucocitosis con desviación a la izquierda, además de alteraciones de la coagulación con trombocitopenia e hipofibrinogenemia presentándose coagulación intravascular diseminada (Strickland, 1998; Bowman and Atkins, 2009).

### 3.10 PROFILAXIS

El uso de medicación para prevenir la dirofilariosis debe realizarse durante toda la vida del perro, iniciándose desde las 6-8 semanas de edad. La administración de quimioprofilaxis es imprescindible para evitar la infección, especialmente en regiones híperendémicas (Atkins, 2009).

El tratamiento profiláctico de elección se basa en la administración de lactonas macrocíclicas como son la ivermectina, moxidectina, milbemicina o selamectina. (McCall et al., 1986). Estos fármacos se presentan en diferentes preparados comerciales para ser administrados mensualmente por vía tópica y oral, o anualmente por vía parenteral. Presentan eficacia para la eliminación de microfilarias sin mostrar efectos adversos (McCall et al., 2001a; McCall et al., 2014a).

Las lactonas macrocíclicas tienen una alta efectividad. Presentan acción sobre los canales de cloro ligados al glutamato, previenen la secreción de proteínas inmunomoduladoras parasitarias,



incrementando la vulnerabilidad del parásito frente al sistema inmune (Wolstenholme, 2013).  
(Imagen 26)

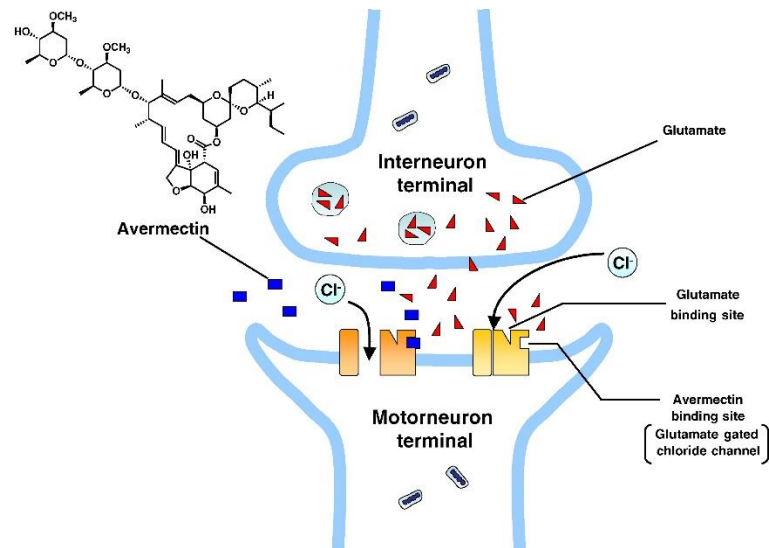


Imagen 26. Representación esquemática del mecanismo de acción de lactonas macrocíclicas. (Ōmura, 2008).

Siguiendo las recomendaciones de la American Heartworm Society (2014), en cachorros se debe iniciar la profilaxis tan pronto sea posible, no mayor de 8 semanas de edad y deben realizarse pruebas de antígeno cada año consecutivamente, principalmente en regiones hiperendémicas. En perros mayores de 7 meses, antes de iniciar el tratamiento preventivo se debe realizar un test de antígeno y repetir la prueba 6 meses después, para descartar una previa infección en periodo prepatente. Igualmente, en casos de animales adultos donde no haya historia previa de toma de preventivo, o cuando exista un lapso de tiempo considerable sin recibir quimioprofilaxis, se debe de realizar el mismo protocolo.

Las lactonas macrocíclicas presentan una efectividad del 97.7% y 95.1% contra larvas de 3 a 4 meses respectivamente. También se ha descrito que tratamientos a largo plazo de hasta 31 meses la efectividad en casos de infección con larvas de 5 meses llega hasta el 98.7%. En el caso de adultos se observó efectividad del 56.3% en animales infectados experimentalmente con dirofilarias de 8 meses de edad tras 16 meses de tratamiento, y del 94.9% frente a parásitos de 7 meses de edad tras recibir lactonas macrocíclicas durante 29 meses (McCall, 2005).

Con los datos previos expuestos, se determinó que el uso de lactonas macrocíclicas actúa sobre las larvas L3 y L4, interrumpiendo su desarrollo a adultos. También se observó que tienen acción sobre las larvas inmaduras de 4 a 5 meses de edad, así como en adultos jóvenes de 6-7 meses; este efecto se denomina “*reach back*” y permite tener una ventana de seguridad frente a retraso en la administración de una dosis de quimioprofilaxis. Sin embargo, no se recomienda su administración como tratamiento adulticida (Venco et al., 2004; McCall, 2005).

## 3.11 TRATAMIENTO

Al iniciar el tratamiento adulticida, se debe tener en cuenta los hallazgos clínicos y de diagnóstico, como son radiología y ecocardiografía, para clasificar al paciente según la gravedad (Di Sacco and Vezzoni, 1992). Para esto se ha elaborado una clasificación de acuerdo a los hallazgos encontrados en los estudios y examen clínico. (Tabla 1)

| CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE DIROFILARIOSIS CANINA |  |              |
|--|--|--------------|
| CLASIFICACIÓN                                  | SIGNOLOGÍA   | PRONÓSTICO   |
| CLASE I  | Anamnesis y exploración física normales.<br>Radiografía, ecocardiografía y analítica normal.   | FAVORABLE    |
| CLASE II                                       | Ligera intolerancia al ejercicio, tos leve.<br>Radiografía con aumento ligero de arteria pulmonar y moderado de ventrículo derecho.<br>Ecocardiografía con presencia de filarias adultas.  | RESERVADO    |
| CLASE III                                      | Intolerancia al ejercicio, tos persistente, disnea, anorexia, caquexia, soplo sistólico.<br>Radiografía con aumento de arterias pulmonares y ventrículo derecho.<br>Ecocardiografía con presencia de filarias en arterias pulmonares y ventrículo derecho.                           | GRAVE        |
| CLASE IV                                       | Shock, letargia, ascitis, disnea, cianosis.<br>Hemoglobinuria y hemoglobinemia.<br>Radiografía con aumento de arterias pulmonares, ventrículo derecho y cava caudal.<br>Ecocardiografía con presencia de filarias en arterias pulmonares, ventrículo derecho, cava caudal y craneal. | DESFAVORABLE |

Tabla 1. Clasificación clínica de dirofilariosis canina. (Di Sacco and Vezzoni, 1992.)

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DIROFILARIOSIS

Esta clasificación resulta útil para establecer el estado clínico del paciente y como guía para la toma de decisiones al iniciar un tratamiento. Sin embargo, a la hora de abordar el tratamiento adulticida se ha propuesto una clasificación basada en el riesgo de desarrollo de complicaciones tromboembólicas durante la muerte de los parásitos como se señala en la tabla 2 (McCall et al., 2008a). (Tabla 2)

| CLASIFICACIÓN EN FUNCIÓN DE DESARROLLO DE TROMBOEMBOLISMO PULMONAR                   |  |
|--|--|
| Bajo riesgo de complicaciones tromboembólicas<br>(debe cumplir todos los requisitos) | Riesgo elevado de complicaciones tromboembólicas (cumplir un solo requisito es suficiente) |
| Asintomáticos  | Síntomas de dirofilariosis   |
| Radiografías torácicas normales  | Radiografías torácicas con anomalías   |
| Bajo nivel de antígenos circulantes  | Elevado nivel de antígenos circulantes   |
| No se visualizan parásitos en ecocardiografía  | Visualización de parásitos en ecocardiografía  |
| Sin enfermedades concomitantes   | Enfermedades concomitantes   |
| Restricción de ejercicio durante el tratamiento                                      | No restricción del ejercicio durante el tratamiento  |

Tabla 2. Clasificación del estado de gravedad según eventos tromboembólicos. (McCall et al., 2008).

Independientemente de la categoría en que se encuentre el perro, siempre debe recomendarse la restricción de ejercicio. En función de su estado clínico, se debe prescribir tratamiento para estabilizar al paciente de acuerdo a las alteraciones presentes. Frente a complicaciones pulmonares (dificultad respiratoria, tos, intolerancia al ejercicio), el uso de glucocorticoides es útil reduciendo la respuesta inflamatoria a los parásitos muertos, disminuyendo la sintomatología especialmente frente a sospecha de tromboembolismos. Sin embargo, no se debe administrar como medida profiláctica frente a la formación de trombos, pues los glucocorticoides son procoagulantes y podrían predisponer a la misma formación de tromboembolismos (Carreton et al., 2014a).

El uso de vasodilatadores (inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina) y diuréticos (furosemida) puede ser útil en el caso de que se presente insuficiencia cardiaca congestiva derecha. La fluidoterapia estaría indicada en presencia de complicaciones renales, pero

en estos pacientes la mejoría se observa cuando se eliminan los parásitos adultos y las microfilarias (Rawlings, 1986; Kittleson, 1998).

### 3.11.1 Tratamiento microfilarias

Una vez hecha la evaluación del estado clínico del paciente, se debe proceder a eliminar las distintas fases de desarrollo del parásito. Se realiza el tratamiento inicial contra las microfilarias y las larvas migratorias (L3 y L4). Para ello las lactonas macrocíclicas a dosis preventivas eliminan gradualmente las microfilarias y los estados larvarios L3 y L4. (Tabla 3)

| LACTONAS MACROCÍCLICAS |            |            |                               |
|------------------------|------------|------------|-------------------------------|
| Principio activo       | Frecuencia | Vía        | Edad mínima de administración |
| Ivermectina            | Mensual    | Oral       | 6 semanas                     |
| Milbemicina            | Mensual    | Oral       | 2 sem (<1kg de peso)          |
| Selamectina            | Mensual    | Tópico     | 6 semanas                     |
| Moxidectina            | Anual      | Inyectable | 3 meses                       |
|                        | Mensual    | Tópico     | 6 semanas                     |

Tabla 3. Indicaciones de uso de lactonas macrocíclicas en microfilaremia.

El inicio del tratamiento preventivo debe ser 2 o 3 meses previos al tratamiento adulticida. Las lactonas macrocíclicas eliminarán las microfilarias y larvas menores de 2 meses de edad. De esta manera, en este periodo de tiempo se permite que las larvas de mayor edad crezcan lo suficiente para ser susceptibles al tratamiento adulticida con melarsomina dihidrocloruro (filarias >4 meses de edad) (Atkins and Miller, 2003; McCall et al., 2004 American Heartworm Society, 2014). De las diferentes lactonas macrocíclicas disponibles, se recomienda el uso de ivermectina por su mayor rango de acción frente a diferentes estadios larvarios (Atkins, 2009).

### 3.11.2 Tratamiento frente a *Wolbachia*

*D. immitis* alberga la bacteria *Wolbachia pipientis*, perteneciente a la familia Rickettsiaceae, endosimbionte intracelular que es fundamental para la vida del parásito y se encuentra en todas sus fases de desarrollo. Su eliminación mediante la administración de doxiciclina en perros (10

mg/kg dos veces al día durante 30 días) puede inhibir la embriogénesis, desarrollo larvario, la producción de microfilarias y la supervivencia de parásitos adultos (Kramer et al., 2008; McCall et al., 2008a; Kramer and Genchi, 2014; McCall et al., 2014b).

La liberación de estas bacterias está asociada a la secreción de citoquinas proinflamatorias, al reclutamiento de neutrófilos y al aumento de inmunoglobulinas específicas. Por ello, al administrar ivermectina con doxiciclina previo al tratamiento adulticida con melarsomina se reduce la patología pulmonar secundaria a la muerte de los parásitos, comparado con aquellos que solo recibieron tratamiento con melarsomina hasta un 60 % (American Heartworm Society, 2014).

Además, se ha descrito que los mosquitos que se alimentan de perros con dirofilariosis tratados con doxiciclina, desarrollan la fase larvaria L3 con motilidad y apariencia normal, pero no logran desarrollarse a adultos en el hospedador vertebrado (McCall et al., 2008a).

### 3.11.3 Tratamiento adulticida

El único tratamiento adulticida para dirofilaria registrado es el derivado arsenical dihidrocloruro de melarsomina (Immiticide, Merial®) a dosis de 2.5 mg/kg. (Imagen 27)



Imagen 27. Presentación comercial de melarsomina, para tratamiento adulticida.

Las recomendaciones de la American Heartworm Society (2014) aconsejan la eliminación gradual de los parásitos adultos, administrando tres inyecciones como se explica a continuación: Una dosis inicial, seguida tras 4 semanas por dos dosis con diferencia de 24 horas entre sí. De esta manera, la muerte de los gusanos adultos se produce de forma escalonada con lo que se incrementa la seguridad frente a la formación de tromboembolismos; además, este protocolo presenta una mayor eficacia adulticida. El fármaco se administra por vía intramuscular profunda en los músculos epiaxiales en la región lumbar a nivel de L3 a L5, ya que el producto es irritante y puede causar miositis, y en esa región suele ser bien tolerado hasta en un tercio de los pacientes tratados.

Una vez terminado el tratamiento adulticida se debe continuar con la administración de lactonas macrocíclicas para evitar nuevas infestaciones. Se debe realizar un test de antígenos para

determinar la eliminación de los adultos y el éxito del tratamiento adulticida tras seis meses de la última dosis de melarsomina. Un test positivo sugiere una reinfestación o infestación persistente. No se recomienda realizar el test de antígenos antes de los 6 meses (4 a 5 meses) porque aún puede haber antígenos presentes, debido a que los parásitos adultos siguen muriendo hasta después de un mes del tratamiento y sus antígenos pueden tardar unos meses en eliminarse del organismo (McCall et al., 2004).

No se recomienda la administración de lactonas macrocíclicas como tratamiento adulticida, ya que la eliminación paulatina de los parásitos adultos es muy lenta, su muerte no sucede de manera controlada y no necesariamente se acompaña de mejoría clínica (McCall et al., 2001b; Venco et al., 2004; McCall, 2005). Se debe tener en cuenta que aunque el tratamiento con lactonas macrocíclicas orientado hacia la eliminación de dirofilarias adultas, no es recomendable; se ha observado una mejor respuesta de efecto adulticida a largo plazo en perros infectados experimental y naturalmente con la adición de doxiciclina al tratamiento con buena tolerancia, si bien aún son necesarios más estudios para determinar la viabilidad de este tratamiento (Bazzocchi et al., 2008a, b; Grandi et al., 2010; Mavropoulou et al., 2014b; Passeri et al., 2014; Stepanovic et al., 2015).

### 3.11.4 Tratamiento del tromboembolismo pulmonar

La formación de tromboembolismos es mayor durante la fase de tratamiento adulticida por la muerte de los parásitos. Esto ocasiona una reacción inflamatoria que puede cursar con hemoptisis, edema pulmonar y presencia de tos. También se ha descrito presencia de hemorragias focales con coagulación y fibrinólisis asociadas, pudiendo desarrollarse coagulación intravascular diseminada (Calvert and Rawlings, 1985).

Se recomienda el uso de esteroides como la prednisona a dosis descendentes y oxigenoterapia para evitar hipoxia, ya que la formación de tromboembolismos junto a periodos largos de hipoxia puede agravar o desarrollar hipertensión pulmonar (Rawlings and Tackett, 1990). El uso de aspirina no se recomienda para el tratamiento de la arteritis pulmonar dado que la evidencia clínica de su eficacia es escasa (McCall et al., 2004; Atkins, 2009; American Heartworm Society, 2014).



### 3.11.5 Extracción quirúrgica de los parásitos

En perros con altas cargas parasitarias o con síndrome de la vena cava, existe una alternativa al tratamiento adulticida que es la extracción por vía transyugular (preferentemente derecha) de las filarias adultas accediendo a las cámaras cardíacas y arterias pulmonares mediante el uso de fórceps flexibles Alligator o un lazo quirúrgico intravascular (Jackson et al., 1966; Sasaki et al., 1989; Ishihara et al., 1990; Bové et al., 2010). (Imagen 28). Esta técnica quirúrgica permite minimizar los riesgos relacionados con los fenómenos tromboembólicos inducidos por los medicamentos adulticidas que ocurren después la muerte de los parásitos (Morini et al., 1998). Posteriormente a la extracción quirúrgica, se debe realizar un tratamiento adulticida tradicional para eliminar el resto de los parásitos adultos, así como las microfilarias y larvas migratorias (Strickland, 1998).



Imagen 28. Extracción quirúrgica de filarias adultas. (Hospital Valencia Sur-Venco).

## 3.12 HIPERTENSIÓN PULMONAR

La hipertensión pulmonar (HTP) se ha descrito como una enfermedad dependiente de diversos factores y asociada a gran número de patologías, donde la vasculatura pulmonar sufre remodelación, aumentando la presión en el lecho vascular pulmonar. Históricamente, el diagnóstico de HTP no ha sido sencillo ya que la sintomatología es variada, y los signos asociados a la enfermedad son inespecíficos. En la actualidad, gracias a los avances en investigación y tecnología, se ha facilitado su diagnóstico, monitorización y tratamiento. Esto ha hecho que la HTP sea diagnosticada más frecuentemente mejorando así el pronóstico de la enfermedad.

La HTP ha sido descrita como un hallazgo patofisiológico resultado de la interacción entre el flujo sanguíneo pulmonar (salida cardiaca del ventrículo derecho), la resistencia vascular pulmonar y la presión post-capilar, reflejo de la presión del atrio izquierdo (Stepien, 2009).

Desde el punto de vista diagnóstico, se define como el aumento de la presión arterial diastólica y/o sistólica de la arteria pulmonar. En HTP, la presión sistólica pulmonar arterial es  $>30$  mmHg, la presión diastólica pulmonar arterial  $>15$  mmHg, o la presión media arterial pulmonar  $>20$  mm Hg (Serres et al., 2007; Kellihan and Stepien, 2012b).

En perros, la HTP secundaria a dirofilariosis es una de las causas reconocidas de origen precapilar, apareciendo de forma secundaria a los efectos mecánicos e inmunológicos por la presencia de los parásitos. Esto conduce a un incremento de la resistencia vascular y presión en el sistema vascular pulmonar (Sasaki et al., 1992; Johnson et al., 1999; Pyle et al., 2004; Quinn and Williams, 2011a; Tai and Huang, 2013). En dirofilariosis, los cambios fisiopatológicos dan lugar a vasoconstricción, proliferación celular del músculo liso vascular y endarteritis de la íntima, así como tromboembolismos pulmonares (Kramer et al., 2008; McCall et al., 2008b).

El aumento de presión en el atrio izquierdo, relacionado principalmente con enfermedad valvular mitral o cardiomiopatía dilatada, puede desembocar en insuficiencia cardíaca derecha secundaria a insuficiencia cardíaca izquierda y desarrollo de HTP (Stepien, 2009; Kellihan and Stepien, 2012b). En estudios previos, se encontró un 40% de pacientes diagnosticados de HTP con aumento de presión de atrio izquierdo (Johnson et al., 1999), así como cambios en la presión

de corazón derecho en perros con enfermedad valvular degenerativa mitral (Chiavegato et al., 2009; Opitz et al., 2011; Kellihan and Stepien, 2012a).

El cateterismo cardiaco es la medida ideal para el diagnóstico de HTP, ya que permite determinar de forma directa y fiable las presiones en cámaras cardiacas (Kellihan and Stepien, 2010). En medicina veterinaria, este método no está al alcance del veterinario clínico ya que requiere conocimientos técnicos, y una infraestructura especializada, quedando para realización exclusiva en centros de investigación o de referencia. Además, requiere de sedación y/o anestesia, que se puede considerar de alto riesgo en pacientes inestables (Gupta et al., 2011).

Actualmente, la ecocardiografía se emplea como método diagnóstico para determinación de HTP en medicina veterinaria. Mediante esta técnica, se evalúan los cambios hemodinámicos y estructurales que se producen, ya que se ha demostrado una fuerte correlación entre dichos cambios y la medición de presión pulmonar mediante cateterismo (Arcasoy et al., 2003; Bacal et al., 2010). Entre los cambios evaluables para determinar la presencia de HTP están la valoración subjetiva de los cambios cardiacos por el aumento de presión en cámaras derechas y arteria pulmonar; como la dilatación de la arteria pulmonar, ventrículo derecho, atrio derecho, engrosamiento de las paredes del ventrículo derecho, así como el análisis mediante Doppler de la insuficiencia valvular tricuspídea y pulmonar, y los perfiles sistólicos de tiempos de eyección de arteria pulmonar (Johnson et al., 1999).

### 3.12.1 Anatomía ventricular derecha

El ventrículo derecho tiene una forma piramidal con tres caras y una base. La base corresponde a la válvula tricúspide y la vía de entrada del ventrículo derecho y las caras son: la región anterior de la pared libre, la región posterior de la pared libre y el septum interventricular. El tracto de salida corresponde al infundíbulo. La vía de entrada y el tracto de salida están separados por la cresta supraventricular, además de la banda moderadora que atraviesa desde el septo interventricular hasta la pared libre; que está adosada al septo interventricular por delante y por detrás (Tazar and Álvarez, 2012). Factores como el aumento de presión o de volumen pueden modificar la conformación estructural del ventrículo derecho.

La disposición anatómica de sus paredes y una pared libre delgada le otorgan al ventrículo derecho un alto grado de distensibilidad con la capacidad de albergar grandes volúmenes y bajas resistencias, requiriendo de solo 5 mmHg como gradiente de presión para lograr la circulación pulmonar (Lee, 1992). Esto le permite adaptarse a sobrecargas de presión, ya que el lecho vascular pulmonar compensa el aumento de presión al distenderse, disminuyendo la presión en el ventrículo (Fishman, 1976). Esta anatomía compleja dificulta la medición adecuada de su función mediante ecocardiografía, que es la técnica de imagen cardiovascular diagnóstica más usada. Por esto, varias medidas y guías han sido validadas para medir su función (Rudski et al., 2010; Hammoudi and Cohen, 2014).

El sistema vascular pulmonar normal se caracteriza por ser de baja presión, baja resistencia vascular y elevada distensibilidad. La presión normal de la arteria pulmonar es de 14 mmHg, y en situación de aumento del gasto cardíaco, la adaptación de la vasculatura permite que, de manera normal, se pueda realizar esa sobrecarga de presión y de volumen, logrando mantener el equilibrio entre precarga y postcarga. El ventrículo derecho es sensible al aumento de la postcarga y responde de manera inadecuada a los cambios agudos de presión, como en el caso de tromboembolismos pulmonares, siendo los incrementos crónicos de presión mejor tolerados (Barnard and Alpert, 1987; Tazar and Álvarez, 2012).

Cuando esta capacidad compensatoria es excedida, la presión pulmonar aumenta primero durante el ejercicio, la cual puede elevarse hasta tres veces por encima de la presión normal (Kittleson, 1998), para posteriormente también aumentar en reposo; así, elevaciones crónicas de la postcarga del ventrículo derecho provocan insuficiencia del mismo (Guglin and Khan, 2010).

### 3.13 FISIOPATOLOGÍA DE HIPERTENSIÓN PULMONAR

El mantenimiento de la presión pulmonar es complejo y multifactorial. La elevación de la presión ocurre por una disfunción endotelial que conduce a un desequilibrio de agentes vasoactivos de vasoconstricción y vasodilatación, con predominio de la vasoconstricción. (Imagen 29). La prostaciclina y tromboxano A2 son metabolitos derivados del ácido araquidónico del lecho vascular de la arteria pulmonar; la prostaciclina es un vasodilatador, con propiedades antiproliferativas y de inhibición de la activación de plaquetas. El tromboxano A2 es un agente

vasoconstrictor y agonista plaquetario. En HTP predomina el tromboxano A<sub>2</sub>, resultando en vasoconstricción. El óxido nítrico es un potente vasodilatador, inhibe la agregación plaquetaria y la proliferación de células musculares lisas, mientras que la serotonina y la hipoxia crónica tienen acción vasoconstrictora (Ettinger and Feldman, 2009b).

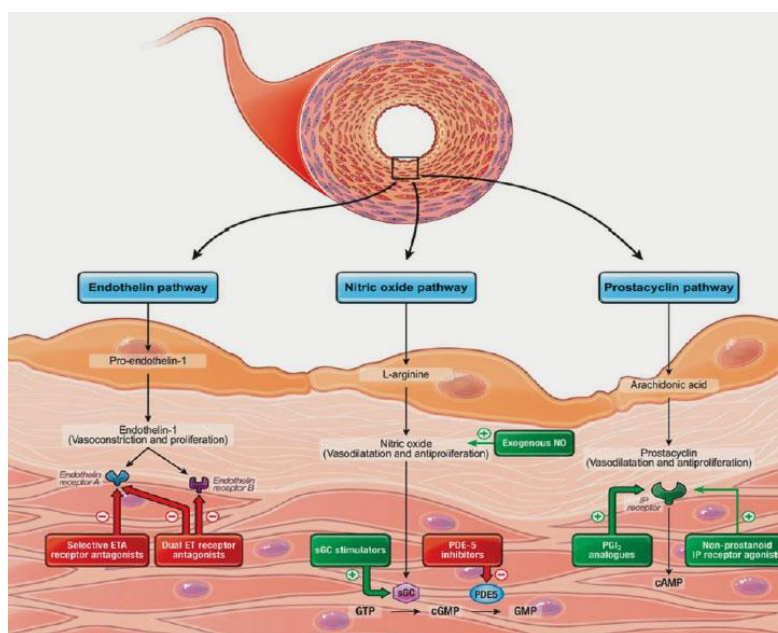


Imagen 29. Interacción de mediadores vasoactivos en la fisiopatología de hipertensión pulmonar. (<http://www.hipertensionpulmonarargentina.org/>)

Los principales mecanismos implicados en la regulación de la presión de la vascular pulmonar son:

### 3.13.1 Hipoxia alveolar

La hipoxia alveolar es una respuesta secundaria a la vasoconstricción de los vasos pulmonares. La vasoconstricción permite que la sangre sin oxígeno sea derivada hacia zonas del pulmón que se encuentran mejor ventiladas, mejorando así la ventilación-perfusión, como una respuesta inicial fisiológica beneficiosa pero que, de manera crónica, puede conducir al desarrollo de HTP. La presión parcial de oxígeno a nivel local afecta la actividad de canales de potasio, calcio y cloro; estos controlan el tono de la vasculatura pulmonar, produciendo una presión parcial de oxígeno baja o hipoxia y conduciendo a vasoconstricción, principalmente en las pequeñas arterias

y arteriolas pulmonares, lo que provoca una mayor resistencia vascular pulmonar (Kellihan and Stepien, 2010).

Si la presión parcial de oxígeno permanece baja durante un periodo largo, la vasoconstricción pulmonar resulta en un aumento de la presión pulmonar y desarrollo de HTP. La hipoxia alveolar también induce factores de crecimiento, como los derivados de plaquetas A y B, factor de crecimiento endotelial vascular, endotelina y serotonina. Estos factores se relacionan con proliferación celular endotelial y remodelación vascular (Quinn and Williams, 2011b).

### **3.13.2 Control adrenérgico**

La vasoconstricción arterial pulmonar sucede en respuesta a la estimulación de los receptores adrenérgicos alfa. Los receptores de este tipo, que se encuentran en las arterias pulmonares, tienen una alta afinidad por sus agonistas, tales como la noradrenalina y, cuando se estimulan de manera excesiva, también pueden provocar remodelación arterial pulmonar (Kellihan and Stepien, 2010). Los receptores adrenérgicos beta estimulan la vasodilatación arterial pulmonar y la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona.

### **3.13.3 Eicosanoides: prostaglandinas y tromboxano**

Las prostaglandinas son sustancias que se sintetizan, metabolizan y liberan de manera activa en los pulmones. La prostaglandina F<sub>2α</sub> y la prostaglandina A<sub>2</sub> ocasionan vasoconstricción, mientras que la prostaciclina y la prostaglandina E<sub>1</sub> provocan vasodilatación e hipertrofia vascular, así como remodelación e inhibición de la agregación plaquetaria (McLaughlin et al., 2009; Kellihan and Stepien, 2010).

El tromboxano, una sustancia derivada de las prostaglandinas, es sintetizado y almacenado en las plaquetas y se relaciona con vasoconstricción y activación plaquetaria. En personas con HTP, hay un desequilibrio prostaciclina-tromboxano, con vasoconstricción arterial pulmonar, trombosis y proliferación (Wells and Sleeper, 2008).

### **3.13.4 Óxido nítrico (NO)**

Varios estudios han mostrado que el NO juega una parte importante en la fisiología del pulmón (Zapol et al., 1994), particularmente en mantener la presión baja en el circuito pulmonar



normal. El NO se sintetiza en las células endoteliales a partir de la L-arginina y oxígeno; una vez liberado, viaja hacia las células del músculo liso, estimulando la enzima guanilato-ciclasa, la cual cataliza la conversión del trifosfato de guanosina en monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) conduciendo a un aumento en las concentraciones de cGMP. Este inhibe la liberación de calcio a partir del retículo endoplásmico y ocasiona vasodilatación pulmonar. El NO también inhibe la activación plaquetaria y la hipertrofia de las células del músculo liso vascular (Moncada et al., 1991; Quinn and Williams, 2011b).

### 3.13.5 Endotelina 1 (ET-1)

La ET-1 es un péptido liberado por el endotelio vascular en respuesta a cambios en el flujo sanguíneo, expansión vascular, oxigenación y concentraciones de trombina. Una vez liberada, la ET-1 ocasiona vasoconstricción, estimula los factores de crecimiento y la proliferación de células musculares lisas, también promueve la remodelación vascular (McLaughlin et al., 2009). La producción de la ET-1 es inhibida por la prostaciclina y el NO. La ET-1 es un vasoconstrictor potente y sus niveles serológicos están elevados en personas con HTP, habiendo una correlación entre las concentraciones de ET-1, la severidad de la hipertensión pulmonar, y el pronóstico (Giaid et al., 1993; Benza et al., 2015). Estudios veterinarios también han confirmado que las concentraciones de ET-1 se encuentran elevadas en perros con HTP (Uchida and Saida, 2005; Fukumoto et al., 2014).

### 3.13.6 Serotonina

La serotonina se produce en el tracto gastrointestinal a partir del triptófano. Una vez sintetizada, se libera hacia la circulación y es captada por las plaquetas, las cuales liberan serotonina en respuesta al daño de las paredes de los vasos, ocasionando vasoconstricción local. La serotonina puede actuar como factor de crecimiento, y también provoca hipertrofia de las células musculares lisas y remodelación vascular.

### 3.13.7 Angiotensina II

La angiotensina II es un péptido producido por las acciones de la enzima de conversión de angiotensina (ECA) sobre la angiotensina I. En modelos animales de HTP, ésta se relaciona con

un aumento en la expresión y actividad de ECA. La angiotensina II provoca vasoconstricción y remodelación vascular (Kellihan and Stepien, 2010).

## 3.14 HIPERTENSION PULMONAR ARTERIAL POR DIROFILARIOSIS

### 3.14.1 Tromboembolismo Pulmonar

En la dirofilariosis canina, el desarrollo de HTP se asocia a la interrupción del flujo sanguíneo ocasionado por la muerte de los parásitos adultos, interfiriendo el intercambio gaseoso y la circulación llevando al paciente a un estado de hipoxemia (McCall et al., 2008b). Esta situación puede generar insuficiencia ventricular derecha e incluso la muerte en caso de tromboembolismo pulmonar severo. La presión en la arteria pulmonar se incrementa solo si más del 30 al 50% del área de sección transversal total del lecho arterial pulmonar es ocluido por un tromboémbolo (McIntyre and Sasahara, 1971).

El tromboembolismo pulmonar induce vasoconstricción, mediado por la liberación de tromboxano A<sub>2</sub> y serotonina, lo cual contribuye al incremento inicial en la resistencia vascular pulmonar post-embolismo (Smulders, 2000), que conlleva un aumento de la resistencia vascular y un descenso proporcional de la distensibilidad arterial (Lankhaar et al., 2006). De manera secundaria, el ventrículo derecho se dilata, alterando las características contráctiles, e incrementando la presión y el volumen, esto aumenta la tensión parietal y el estiramiento de los miocitos, conduciendo a una prolongación del tiempo de contracción del ventrículo derecho. Además, la activación neurohumoral provoca estimulación inotrópica y cronotrópica positivas. Estos mecanismos compensatorios, junto con la vasoconstricción, incrementan la presión pulmonar aumentando el flujo a través del lecho vascular pulmonar obstruido, estabilizando temporalmente la presión sanguínea sistémica (Molloy et al., 1984).

La duración de la adaptación es limitada, ya que la delgada pared del ventrículo derecho es incapaz de generar una presión media en arteria pulmonar superior a 40 mm Hg. Además, la prolongación de la contracción en ventrículo derecho, en la diástole temprana del ventrículo izquierdo, lleva a un movimiento hacia la izquierda del septo interventricular, resultando en un bajo llenado del ventrículo izquierdo, y como consecuencia una reducción del gasto cardiaco, hipotensión e inestabilidad hemodinámica (Mauritz et al., 2011).

En pacientes con sospecha de tromboembolismo agudo, la ecocardiografía puede ser de utilidad al detectar aumento del grosor de la pared y/o insuficiencia tricuspídea, con velocidades compatibles con sobrecarga de presión aguda del ventrículo derecho. En estos casos, la HTP crónica debe ser incluida en el diagnóstico diferencial (Konstantinides et al., 2014). La dirofilariosis se debe incluir en el diagnóstico diferencial, especialmente si el perro habita en una zona endémica; es posible, además, visualizar ecocardiográficamente las dirofilarias adultas desde arteria pulmonar derecha hasta arteria pulmonar principal (Venco et al., 2001).

Para diferenciar HTP aguda por tromboembolismo de la HTP crónica, se pueden evaluar otros parámetros, como la velocidad pico E mitral, que disminuye después de una reducción aguda de la precarga de ventrículo izquierdo causada por tromboembolismo pulmonar, mientras que en pacientes con HTP crónica el gasto cardiaco no cambia substancialmente, al no afectar a la precarga de ventrículo izquierdo (Wu et al., 2008).

### 3.15 CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LA HTP

La HTP fue previamente clasificada en dos categorías: HTP primaria e HTP secundaria a causas identificadas o factores de riesgo (Hatano, 1975).

En 1998 en Évian (Francia) se hizo una actualización de la clasificación, estableciéndose en categorías que compartieran hallazgos patológicos similares, características hemodinámicas similares y tratamiento similar. Así, se identificaron 5 grupos de patologías que causan HTP: hipertensión pulmonar arterial, hipertensión pulmonar relacionado a enfermedad de corazón izquierdo, hipertensión pulmonar relacionado a enfermedad pulmonar crónica y/o hipoxia, hipertensión pulmonar por tromboembolismo crónico e hipertensión pulmonar relacionado a mecanismos multifactoriales poco claros (Simonneau et al., 2009).

En 2013 se revisó la clasificación durante el 5th simposio mundial en Niza (Francia), donde no varió la clasificación propuesta por Évian previamente y únicamente se reclasificaron algunas patologías en grupos diferentes de los que estaban catalogados previamente (Simonneau et al., 2013). En medicina veterinaria la clasificación de Évian ha sido adaptada por Kellihan y Stepien en 2010 como se describe a continuación.

## 3.15.1 Clasificación clínica I: hipertensión pulmonar arterial

Incluye los pacientes con HTP debida a enfermedad vascular arterial pulmonar. En humanos, la forma más común de la clase I es la HTP idiopática (Ryan et al., 2012). Aunque se ha reconocido la existencia de HTP idiopática en perros, esta es poco común; en una población de laboratorio en perros de raza beagle, aparecieron 176 casos en 18 años, no pudiendo determinar la causa específica de la hipertensión pulmonar, pero donde aparecen incluso lesiones similares a las descritas en humanos (Glaus et al., 2004a). En perros, las causas más comunes de HTP clase I incluyen derivaciones congénitas y dirofilariosis cardiopulmonar (Kellihan and Stepien, 2010).

## 3.15.2 Clase clínica II: hipertensión pulmonar relacionada con patología de corazón izquierdo

La enfermedad crónica del corazón izquierdo conduce a un aumento de presión en el atrio izquierdo, lo que a su vez lleva a una mayor presión venosa pulmonar. En estas condiciones, se desarrolla edema pulmonar e hipoxia, así como HTP arterial reactiva (Stepien, 2009). Cuando la presión venosa pulmonar supera los 25 mm Hg, la presión arterial pulmonar aumenta en un intento por mantener el flujo sanguíneo pulmonar, desarrollándose hipertrofia arteriolar de manera crónica, siendo la causa más frecuente de HTP tanto en personas como en perros (Kellihan and Stepien, 2010; Subias et al., 2010). La enfermedad valvular degenerativa mitral es la causa más frecuente de HTP en perros (Kellihan and Stepien, 2012b) y en humanos (Connell et al., 2012). Aunque menos usual, se ha informado de HTP clase II en personas y perros con miocarditis y distensión atrial secundaria a fibrilación atrial (Johnson et al., 1999).

## 3.15.3 Clasificación clínica III: enfermedad respiratoria crónica o hipoxia

La HTP también puede ser secundaria a enfermedad pulmonar primaria o hipoxia crónica. A estos pacientes se les considera clase III. Las enfermedades respiratorias asociadas con HTP clase III con mayor frecuencia en humanos son la enfermedad obstructiva crónica de vías respiratorias, enfermedad intersticial de los pulmones y el trastorno respiratorio del sueño (McLaughlin et al., 2009).

En perros, la HTP clase III se asocia a fibrosis pulmonar, neumonía, enfermedad traqueobronquial y neoplasia. Hasta el 40% de los perros de raza West Highland White Terrier

con enfermedad pulmonar intersticial crónica presentan cierto grado de HTP (Kim et al., 2000; Schober and Baade, 2006). En condiciones de hipoxia hipobárica (baja oxigenación a gran altitud por baja presión parcial de oxígeno) se encontraron diferencias significativas en el perfil de flujo pulmonar y parámetros ecocardiográficos sistólicos y diastólicos (Glaus et al., 2004b).

### **3.15.4 Clase clínica IV: enfermedad tromboembólica crónica**

La HTP clase IV se debe a procesos tromboembólicos. En humanos, la obstrucción de la arteria pulmonar por embolismo es la tercera enfermedad cardiovascular más frecuente, con una incidencia anual de 100 a 200 por cada 100.000 habitantes (Konstantinides et al., 2014). En perros, el tromboembolismo pulmonar se relaciona con anemia hemolítica inmunomediada, neoplasias, neuropatías y enteropatías perdedoras de proteínas, hiperadrenocorticismo, sepsis y traumatismo (Johnson et al., 1999; Kellihan and Stepien, 2010). Dada la posibilidad de émbolos por gusanos, la dirofilariosis cardiopulmonar puede incluirse también en esta categoría (Kellihan and Stepien, 2010).

### **3.15.5 Clase clínica V: Multifactoriales**

La HTP clase V comprende las causas diversas de HTP. En personas, la clase V incluye trastornos que de manera indirecta alteran el flujo sanguíneo cardíaco (por ejemplo, policitemia vera), enfermedades granulomatosas y enfermedades que conducen a la destrucción del parénquima pulmonar (Simonneau et al., 2009). En medicina veterinaria, la HTP clase V es poco frecuente; sin embargo, probablemente los trastornos más comunes sean aquellos que originan compresión de la vasculatura pulmonar, como las neoplasias (Quinn and Williams, 2011a).

## **3.16 CLASIFICACIÓN FUNCIONAL**

Mientras que la clasificación clínica de los pacientes de HTP se basa en la causa subyacente, la clasificación funcional agrupa a estos pacientes en función de la severidad de los signos clínicos inducidos por la HTP. La clasificación hace referencia a medicina humana, aunque puede extrapolarse a la medicina veterinaria.

## 3.16.1 Clase funcional I

Esta clase incluye pacientes con HTP que no sufren de ninguna reducción en la actividad física y que pueden ejercitarse sin signos de disnea, fatiga, dolor torácico o síncope.

## 3.16.2 Clase funcional II

Los pacientes de la clase II no presentan sintomatología en reposo, pero un aumento de la actividad física se relaciona con la presentación de disnea, fatiga, dolor torácico o síncope.

## 3.16.3 Clase funcional III

Estos pacientes tienen HTP que resulta en limitaciones notables en la actividad física y manifiestan disnea, fatiga, dolor torácico o síncope intensos, aún con actividad mínima. Estos pacientes se encuentran bien en reposo.

## 3.16.4 Clase funcional IV

La clase IV incluye pacientes con HTP que les impide participar en actividades físicas, de manera que cualquier actividad física conduce a manifestación de síntomas intensos. Estos pacientes se encuentran asintomáticos en descanso y tienen una insuficiencia cardíaca derecha secundaria a HTP (Quinn and Williams, 2011a).

## 3.17 SIGNOS CLÍNICOS

La intolerancia al ejercicio es el signo clínico más común. El síncope se describe en el 20% de los casos y puede ocurrir por flujo pulmonar insuficiente durante el ejercicio (Johnson et al., 1999). Los perros con HTP severa muestran signos clínicos de insuficiencia cardíaca derecha, en asociación con intolerancia al ejercicio y disnea (Kittleson, 1998).

Las anormalidades en el examen clínico incluyen soplos cardíacos por insuficiencia mitral y/o tricuspídea, y un sonido S2 desdoblado asociados a las patologías subyacentes (Pyle et al., 1981; Quinn and Williams, 2011b). Otros hallazgos pueden ser crepitaciones pulmonares, sonidos pulmonares bronco-vesiculares aumentados, tos, disnea, letargia, ascitis y cianosis (Johnson et al., 1999; Kelliham and Stepien, 2010; Kelliham and Stepien, 2012b).



La HTP se presenta con mayor frecuencia en razas pequeñas y en edades de medias a avanzadas; esto se debe a la mayor prevalencia de enfermedad valvular mitral y enfermedades pulmonares crónicas en este tipo de perros (Johnson et al., 1999; Pyle et al., 2004; Schober and Baade, 2006; Chetboul and Tissier, 2012;; Kellihan and Stepien, 2012b; Simonneau et al., 2013).

Cuando la enfermedad es grave, los perros presentan distrés respiratorio severo siendo ésta la causa principal de muerte y de eutanasia en perros con HTP (Bach et al., 2006).

### 3.18 LABORATORIO

Debe obtenerse un perfil básico para determinar alteraciones hematológicas y serológicas, así como un urianálisis. Se recomienda realizar serología para dirofilariosis en zonas endémicas (Tai and Huang, 2013).

Los hallazgos más comunes pueden ser leucogramas inflamatorios (en presencia de grandes trombos pulmonares), glóbulos rojos nucleados (potencial indicador de hipoxia) y policitemia, además de eosinofilia, basofilia, monocitosis y anemia no regenerativa en pacientes con dirofilariosis. A su vez puede cursar con trombocitopenia secundaria a coagulación intravascular diseminada, como hallazgo en el tromboembolismo agudo (Johnson et al., 1999). En presencia de insuficiencia cardíaca derecha con ascitis, se puede desarrollar hipoalbuminemia debido a la congestión hepática.

### 3.19 BIOMARCADORES

Los biomarcadores pueden ser de utilidad para el diagnóstico de HTP. Las troponinas T e I cardíacas son proteínas liberadas por el miocardio ventricular como resultado de lesión y necrosis en las células miocárdicas (Wells and Sleeper, 2008). Por lo que su utilidad en el pronóstico y progresión de la HTP es relevante para categorizar la severidad de la enfermedad cardíaca (Fonfara et al., 2010). Las concentraciones de troponina I cardíaca están aumentadas en perros con HTP clases I, II, III o IV (Guglielmini et al., 2010) y aumentos de troponina I se han asociado a una disminución en la supervivencia de pacientes con HTP (Oyama and Sisson, 2004).

Los niveles circulantes de la pro-hormona N-terminal del péptido natriurético cerebral (NT-proBNP) aumenta en respuesta a un aumento de la tensión de la pared ventricular del

miocardio (Álvarez et al., 2012). NT-proBNP se ha utilizado en medicina veterinaria para diagnosticar o descartar causas cardíacas en pacientes con dificultad respiratoria (Oyama, 2015). Se ha demostrado que los valores de NT-proBNP son mayores en perros con HTP clase III (Quinn and Williams, 2011b). Se han descrito elevaciones de NT-proBNP en pacientes clínicos con HTP precapilar y con HTP moderada a severa, comparándolos con perros con HTP leve o sin HTP, así como la existencia de una fuerte correlación positiva entre la presión arterial sistólica estimada por el pico de regurgitación tricuspídea y las concentraciones de NT-proBNP (Kellihan et al., 2011).

En perros con dirofilariosis crónica se han encontrado elevaciones de NT-proBNP, así como aumento patológico de otros biomarcadores, como mioglobina y proteína C reactiva. En caso de microembolismo pulmonar es de utilidad la determinación plasmática de dímero-D, que en casos avanzados se acompaña de proteinuria secundaria a glomerulopatía (Carreton et al., 2014b).

### 3.20 ELECTROCARDIOGRAFÍA

El electrocardiograma no es una prueba específica para el diagnóstico de HTP. Éste suele ser normal, y cuando existen alteraciones pueden deberse a cardiomegalia derecha mostrando desviación del eje hacia la derecha. Otros cambios pueden ocurrir, pero de manera secundaria a la enfermedad subyacente como arritmias supraventriculares o ventriculares asociados a enfermedad cardíaca izquierda, bradiarritmias y bloqueos atrioventriculares, asociados a aumento del tono parasimpático relacionado a enfermedad pulmonar (Kellihan and Stepien, 2010).

### 3.21 RADIOGRAFÍA

Las radiografías torácicas en muchos casos son normales, no siendo patognomónicas de la enfermedad, pero pueden evidenciar cambios que la sugieran, dependiendo de la causa subyacente (Pyle et al., 1981). Entre los cambios que se pueden observar se encuentran cardiomegalia generalizada, cardiomegalia derecha y/o dilatación de la arteria pulmonar. (Imagen 30)

Cuando la hipertensión pulmonar es secundaria a enfermedad valvular mitral crónica también se pueden apreciar signos de fallo cardíaco derecho junto a los hallazgos típicos de la

cardiopatía izquierda (elevación de la tráquea y compresión bronquial, aumento de tamaño de la silueta de atrio y ventrículo izquierdo, dilatación de venas pulmonares, áreas de edema intersticial-alveolar, etc.) a los que pueden asociarse patrones radiológicos compatibles con bronquitis crónica, bronquiectasia, fibrosis pulmonar o colapso traqueo bronquial.

En los casos de síndrome de Eisenmenger, los pulmones parecen hipoperfundidos y la arteria pulmonar principal y las arterias lobares proximales se encuentran dilatadas. En los casos de dirofilariosis la radiografía torácica muestra con frecuencia arterias pulmonares dilatadas, a veces con desaparición brusca de arterias pulmonares periféricas por procesos tromboembólicos,

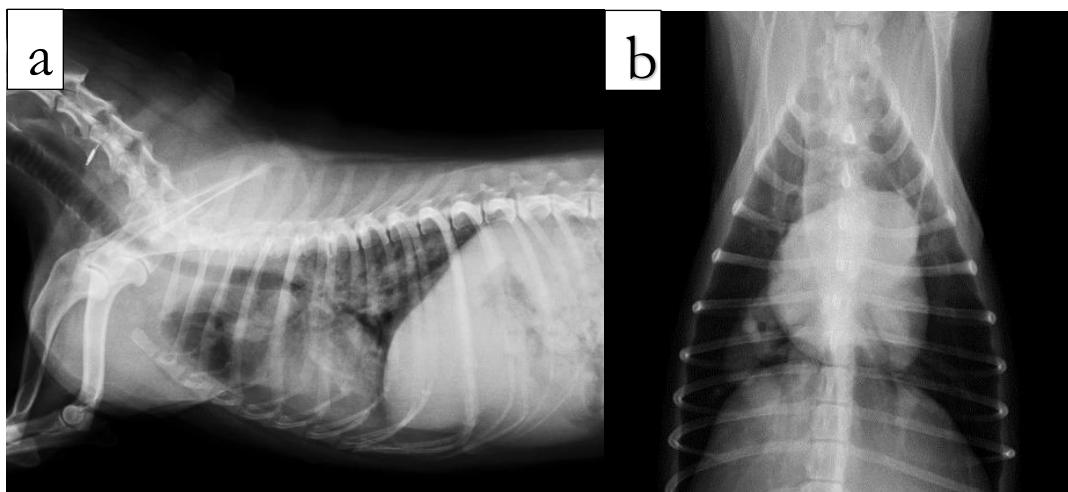


Imagen 30. Estudios radiográficos de silueta cardíaca, a) Proyección Li-Ld con dilatación de arterias pulmonares y patrón intersticial no estructurado sugerente de edema pulmonar. b) Proyección DV mostrando signo de “D invertida” y arterias pulmonares prominentes.

dilatación del ventrículo derecho con infiltrados pulmonares correspondientes a hemorragias o edema (Talavera and Fernández-del-Palacio, 2007).

### 3.22 ECOCARDIOGRAFÍA.

La determinación de HTP se basa en los cambios hemodinámicos y estructurales que se desarrollan durante la enfermedad. Actualmente, en medicina veterinaria el diagnóstico de HTP se basa en la ecocardiografía, en comparación con el método estándar de cateterización cardíaca, que no está disponible para la gran mayoría de centros veterinarios. La ecocardiografía permite medir de manera no invasiva la velocidad de flujo y presión en cámaras y grandes vasos, así como visualizar cambios de remodelación secundarios a HTP (Soydan et al., 2015; Visser et al., 2016).

La HTP se define como una elevación de la presión sistólica de la arteria pulmonar mayor que 30 mm Hg (Kellihan and Stepien, 2010). Los cambios ecocardiográficos derivados de la HTP en modo B incluyen: dilatación atrial derecha y de la arteria pulmonar, hipertrofia excéntrica de ventrículo derecho, aplanamiento y movimiento septal paradójico, así como cambios en la función del ventrículo derecho, como la velocidad de eyección del perfil de flujo sistólico de la arteria pulmonar mediante Doppler espectral (Schober and Baade, 2006) y la presencia de regurgitación tricuspídea y pulmonar (Pyle et al., 2004; Serres et al., 2007). (Imagen 31)

La determinación de la velocidad máxima de regurgitación de la válvula tricúspide es el método ecocardiográfico más comúnmente empleado para diagnosticar HTP, aunque no siempre es detectable (Serres et al., 2007). La insuficiencia tricuspídea se evalúa mediante Doppler color y Doppler espectral. Al medir la velocidad máxima de regurgitación, se puede estimar el gradiente de presión al aplicar la ecuación modificada de Bernoulli (Johnson et al., 1999).

$$\text{Gradiente de presión} = (\text{velocidad máxima de regurgitación tricuspídea})^2 \times 4$$

Un pico de velocidad de regurgitación tricuspídea mayor a 2.8 m/s se considera anormal e indicativo de HTP (Johnson et al., 1999; Paradies et al., 2014). La dificultad para obtener la medición de un pico sistólico de regurgitación tricuspídea es común y se puede deber a la poca cooperación del paciente, pobre calidad de imagen por enfermedad pulmonar y disnea, o una falta de alineación adecuada sobre el jet regurgitante del Doppler (Kellihan and Stepien, 2010).

Al resultado de la cuantificación de la presión de regurgitación tricuspídea se agrega una presión atrial derecha. La presión atrial derecha se estima con base en una valoración subjetiva del tamaño del atrio derecho. A un atrio derecho normal se le asigna una presión de 0 mmHg, un atrio derecho levemente dilatado tiene una presión estimada de 5 mmHg, un atrio derecho dilatado de manera moderada tiene una presión estimada de 10 mmHg y un atrio derecho dilatado de manera severa tiene una presión estimada de 15 mm Hg (Schober and Baade, 2006).

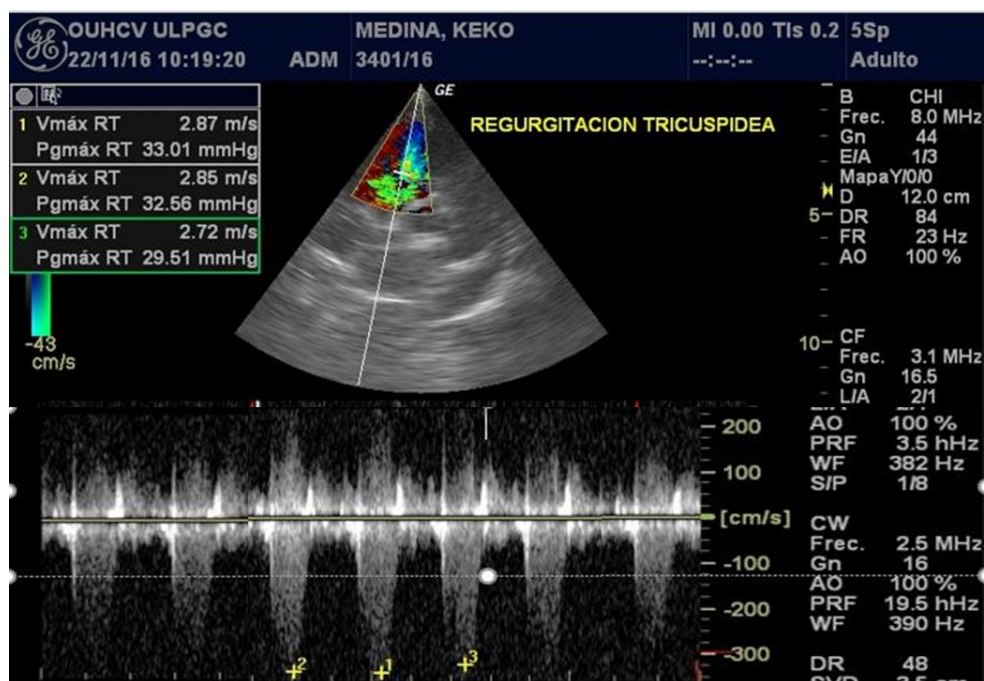


Imagen 31. Evaluación Doppler espectral de insuficiencia tricuspídea en paciente con dirofilariosis cardiopulmonar para diagnóstico de HPT.

En ausencia de obstrucción del tracto del flujo de salida ventricular derecho, la presión sistólica ventricular derecha es una estimación de la presión arterial pulmonar sistólica y, por tanto, puede ayudar a identificar y a clasificar la HTP. La presión arterial pulmonar sistólica tiene rangos que van desde los 15 a 25 mmHg en perros sanos, sin embargo, puede incrementar bajo condiciones fisiológicas diversas, incluyendo la altitud o condición atlética (Serres et al., 2007). La HTP sistólica se clasifica desde leve (de 30 a 50 mmHg), moderada (de 50 a 80 mm Hg) a grave (>80mm Hg) (Johnson et al., 1999; Paradies et al., 2014).

Dado que algunos pacientes con HTP no muestran regurgitación tricuspídea evidente, se debe de usar otros hallazgos para identificar la elevación de la presión arterial pulmonar, como es el pico de velocidad de insuficiencia pulmonar (Kellihan and Stepien, 2010; Paradies et al., 2014).

La presencia de insuficiencia pulmonar permite evaluar la presión arterial pulmonar diastólica. La insuficiencia pulmonar ocurre en diástole y permite diferenciar la presión de arteria pulmonar-ventrículo derecho. Esta medida es útil en caso de que la regurgitación tricuspídea no sea evidente (Serres et al., 2007).

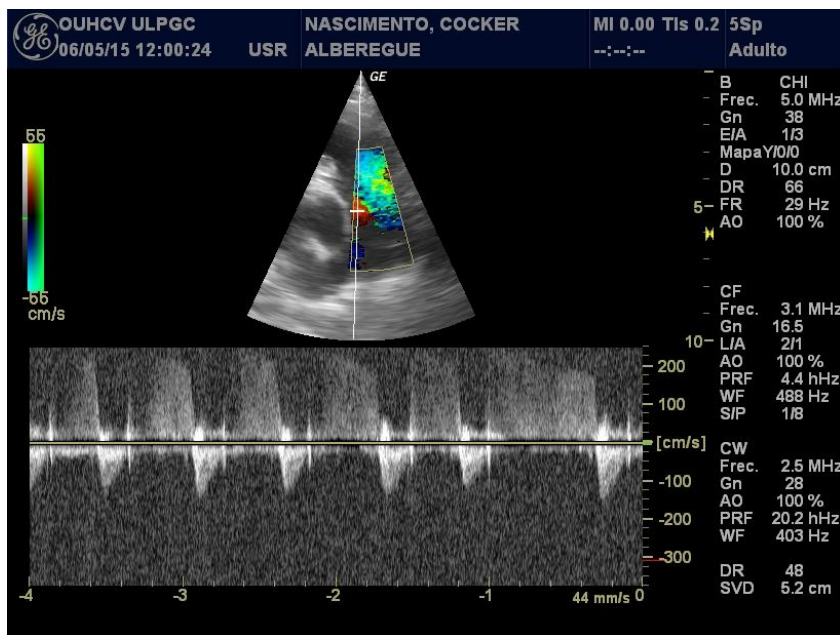


Imagen 32. Evaluación Doppler espectral de insuficiencia pulmonar en paciente con dirofilariosis cardiopulmonar, para diagnóstico de HPT.

Una velocidad de insuficiencia pulmonar de 2.2 m/s o superior, o un gradiente de presión de 19 mmHg o mayor es sugerente de HTP (Johnson et al., 1999; Kelliham and Stepien, 2010; Paradies et al., 2014). Aun así, el flujo de regurgitación pulmonar puede no estar presente en todos los pacientes con HTP (Serres et al., 2007). Se ha descrito que la regurgitación pulmonar es un hallazgo fisiológico normal en perros con relativa frecuencia, por lo que en ausencia de causas funcionales o enfermedad valvular pulmonar se deben de considerar fisiológicos para evitar un mal diagnóstico (Rishniw and Erb, 2000). (Imagen 32)

Por ello, el diagnóstico de la HTP puede llevarse a cabo tomando en cuenta la valoración subjetiva de las estructuras cardíacas en modo B, así como los perfiles de velocidad sistólicos de arteria pulmonar en modo Doppler, los cuales de manera objetiva orientarán en la valoración de los cambios de remodelación y de velocidad y presión secundarios a la HTP, aun en ausencia de insuficiencia de las válvulas tricúspide o pulmonar.



El aumento de presión también se estima mediante la evaluación del grosor de la pared derecha del ventrículo derecho, evidenciando hipertrofia de la pared (Matsukubo et al., 1977) ya que se ha encontrado una correlación entre este parámetro y la presión sistólica pulmonar (Tsuda et al., 1980). Para determinar este valor, se debe de medir en diástole, desde la vista subcostal, usando el modo M o la imagen bidimensional (2D). En personas adultas un grosor de la pared superior a 5 mm es indicativo de hipertrofia y sugerente de sobrecarga de presión del ventrículo derecho

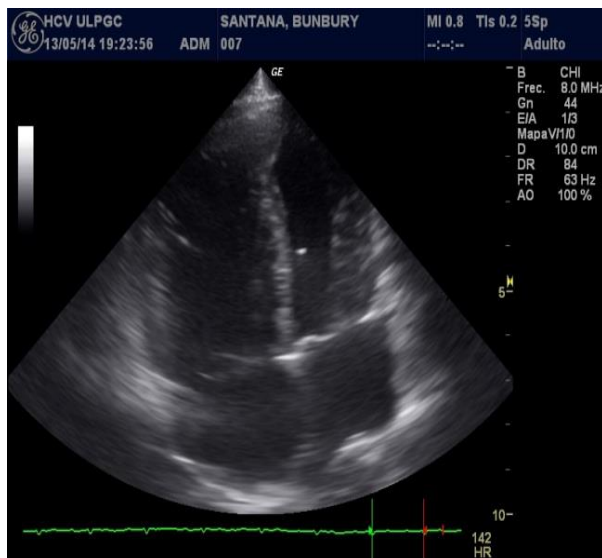


Imagen 33. Imagen ecocardiografica, por ventana paraesternal izquierda, en corte de 4 camaras donde se aprecia dilatación de VD y AD.

en ausencia de otras patologías (Rudski et al., 2010). El engrosamiento de la pared libre de ventrículo derecho en perros, secundario a sobrecarga de presión de ventrículo derecho, es por lo general, igual o superior a la pared libre del ventrículo izquierdo donde la relación entre los grosores de la pared libre de los ventrículos derecho e izquierdo es de 1.0 a 2.3 siendo la relación normal en perros jóvenes entre 0.4 y 0.8. (Nyland, 2004)

Los pacientes con HTP presentan una mayor postcarga ventricular derecha. Debido a esto, las dimensiones de las cámaras derechas pueden ser normales o presentar diversos grados de dilatación desde leve a grave. (Imagen 33)

Otro parámetro ecocardiográfico útil para la evaluación de HTP es el ratio normal del diámetro de la arteria pulmonar principal en relación a la aorta. Este parámetro se obtiene en el corte paraesternal derecho a nivel de la base en eje corto y debe ser  $\leq 0.98$  (relación AP/Ao); un valor mayor es indicativo de dilatación de la arteria pulmonar y podría ser indicativo de HTP (Kellihan and Stepien, 2010). (Imagen 34). La sobrecarga de presión del ventrículo derecho también puede presentar movimiento paradójico y aplanamiento del septo interventricular. (Imagen 35)

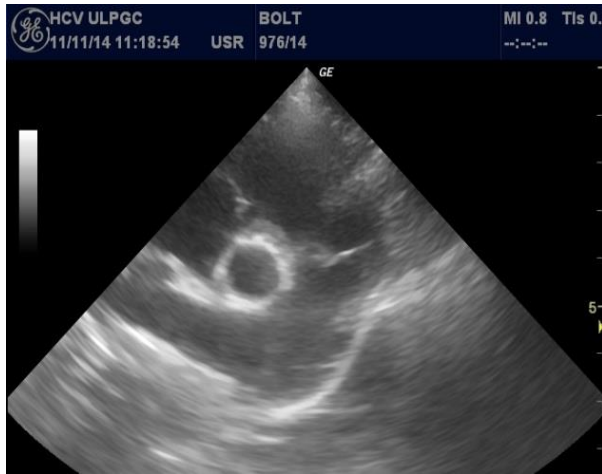


Imagen 34. Imagen ecocardiográfica, por ventana paraesternal derecha, en corte transversal de la arteria pulmonar (AP) que muestra una dilatación evidente.

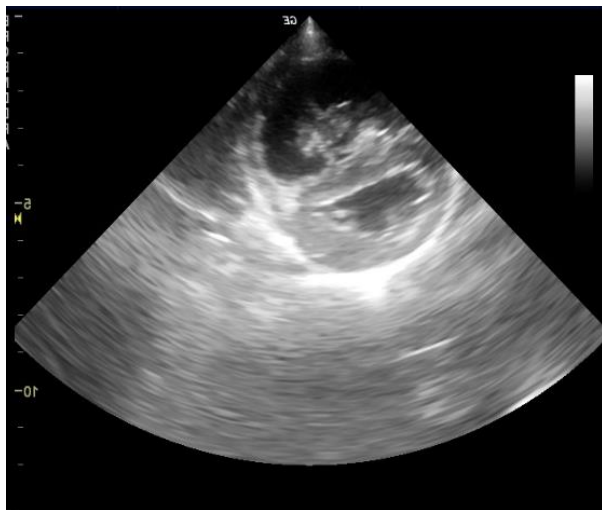


Imagen 35. Imagen ecocardiográfica por ventana paraesternal derecha en corte transversal del ventrículo izquierdo, donde se aprecia dilatación de VD con aplanamiento septal.

El perfil de velocidad de flujo sistólico de la arteria pulmonar mediante Doppler espectral es otra medida de ayuda en el diagnóstico de HTP. En pacientes con presión arterial pulmonar normal, se registra un perfil tipo I, con velocidades de aceleración y desaceleración iguales produciendo una apariencia simétrica. Conforme aumentan las presiones arteriales pulmonares, se registra un perfil asimétrico debido a la presencia de una rápida aceleración inicial y una velocidad pico temprana. Este perfil asimétrico sucede como resultado de una mayor tasa de aumento en las presiones vasculares pulmonares y se le conoce como perfil tipo II. Los perfiles tipo II se relacionan con HTP leve a moderada. En casos de HTP grave, hay una rápida aceleración con una velocidad pico inicial y una muesca sistólica media también presente, lo cual se conoce como perfil tipo III. La muesca sistólica indica flujo sanguíneo inverso, secundaria a presiones vasculares pulmonares altas (Schober and Baade, 2006); este método presenta una sensibilidad y especificidad de 80% para diagnosticar HTP (Serres et al., 2007). (Imagen 36)

Los tiempos de intervalo ventricular sistólico, como son el tiempo de aceleración (TA), tiempo de eyección (TE), relación TA/TE y periodo de pre-eyección (PPE), se han utilizado para ayudar al diagnóstico de HTP en perros.

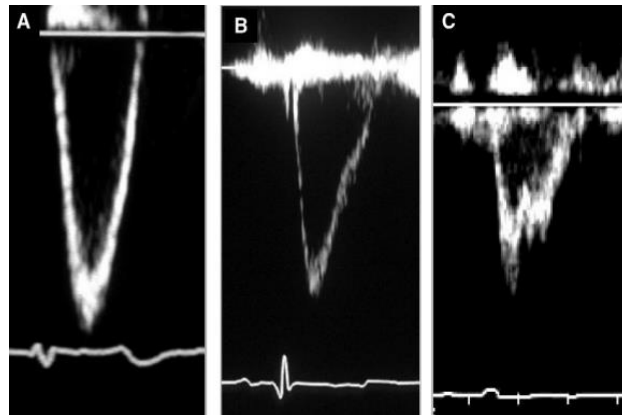


Imagen 36. Perfil de velocidad de flujo sistólico de la arteria pulmonar. (Schober and Baade 2006.)

Estos valores, obtenidos de la velocidad del flujo de salida pulmonar, reflejan cambios en la carga de ventrículo derecho. Se ha demostrado que una relación  $TA/TE \leq 0.31$  y un  $TA \leq 0.58$  ms, son predictivos de HTP (Schober and Baade, 2006). Estos cambios pueden ayudar en el diagnóstico de HTP cuando otros hallazgos clínicos también lo sugieran y no haya regurgitación tricuspídea (Kellihan and Stepien, 2010; Paradies et al., 2014). (Imagen 37)

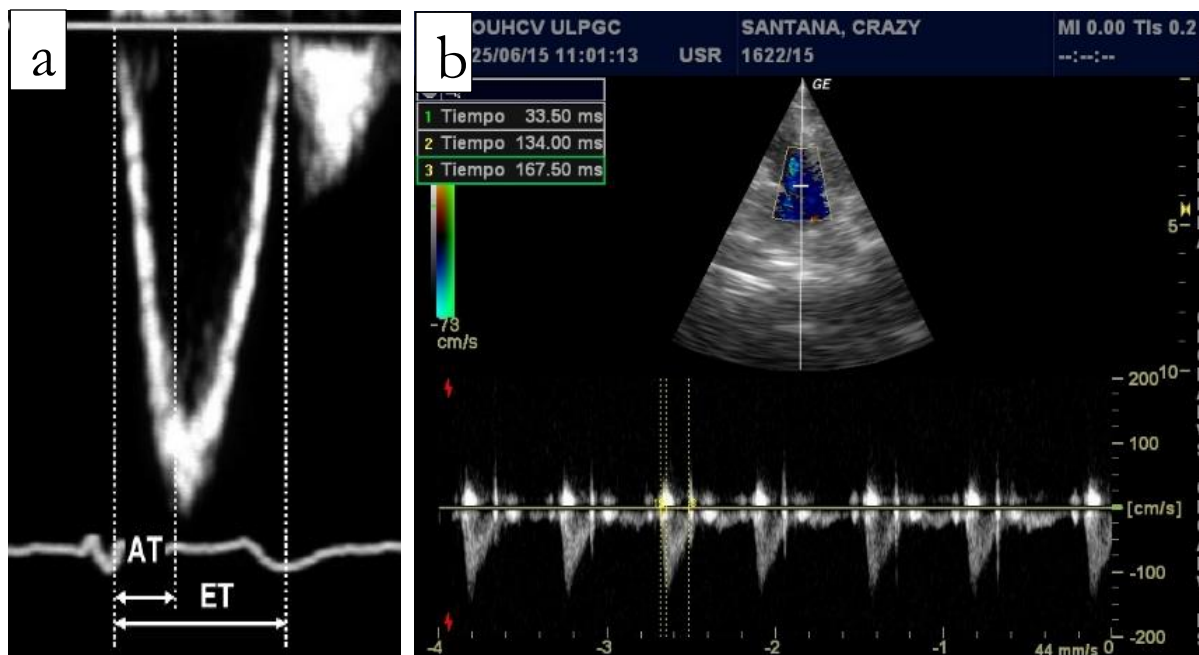


Imagen 37. Perfil Doppler de flujo sistólico pulmonar. a) Se muestra como se determina el TA y TE; b) Ejemplo de medida donde se observa un descenso en el valor de TA en un perro con dirofilariosis cardiopulmonar.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA HIPERTENSIÓN PULMONAR

El índice de distensibilidad de arteria pulmonar derecha (DAPD) es una medida que permite detectar la presencia de HTP y valorar su gravedad; básicamente se calcula como la diferencia en el diámetro de la arteria pulmonar derecha en sístole y en diástole mediante modo-M; a mayor aumento de presión en la arteria pulmonar, mayor pérdida de distensibilidad por lo cual la diferencia de diámetros será menor y mayor, por tanto, la presencia de HTP (Venco et al., 2014b). (Imágenes 38 y 39)

Estudios han mostrado que es un método útil para el diagnóstico temprano de HTP aún en ausencia de regurgitación tricuspídea, y que hay una fuerte correlación entre el índice de distensibilidad y la gravedad de HTP. El índice DAPD se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de distensibilidad de arteria pulmonar derecha} = \frac{(\text{Diámetro sistólico} - \text{diámetro diastólico})}{\text{Diámetro sistólico}}$$

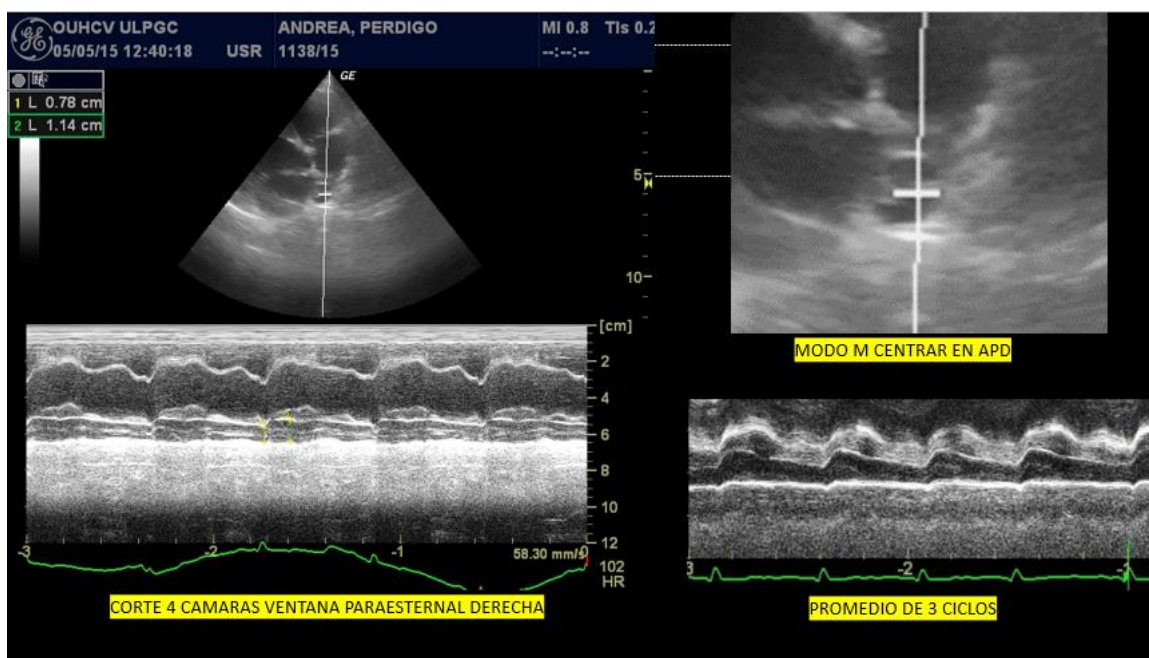


Imagen 38. Corte ecocardiográfico mostrando, la obtención de la distensibilidad de arteria pulmonar derecha.

Un índice DAPD menor a 35% es indicativo de HTP; valores entre 35% y 28% señalan HTP leve (30–55mmHg), entre 27% y 23% indican HTP moderada (56–79 mm Hg), y si el índice DAPD es menor a 22% es indicativo de HTP severa (>79 mmHg) (Venco et al., 2014b).



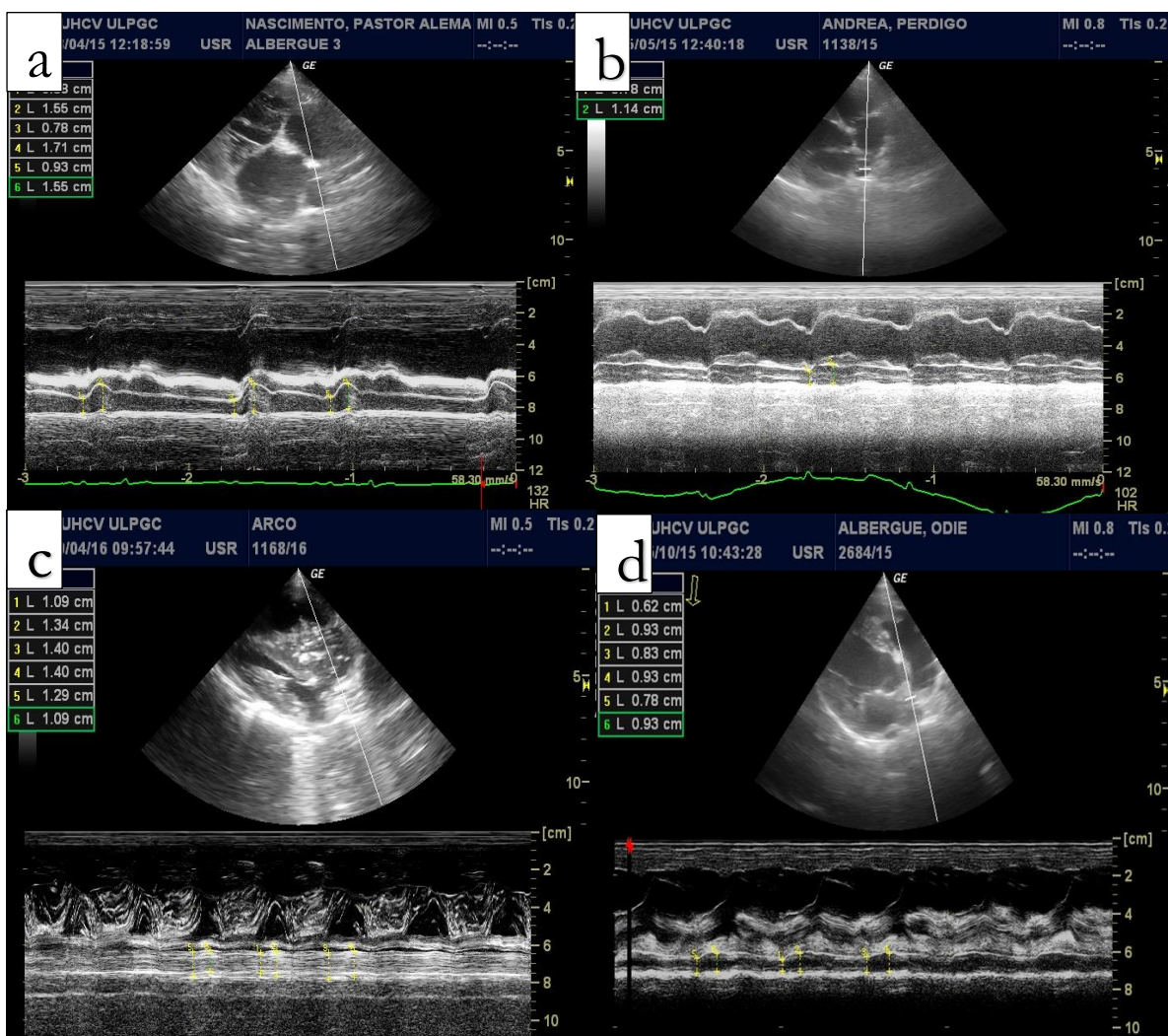


Imagen 39. Serie de imágenes, mostrando los diferentes grados del DAPD; a) >35% de DAPD; b) 28-35 % DAPD; c) 23-27% DAPD; d) <22% DAPD.

La excursión o movimiento sistólico del anillo tricuspídeo (TAPSE) es un parámetro ecocardiográfico que ha sido desarrollado en humanos para evaluar la función sistólica de ventrículo derecho (Pariat et al., 2012). Este parámetro mide el desplazamiento apical de la porción lateral del anillo de la válvula tricúspide durante la sístole en modo M. La medida se obtiene mediante corte apical de cuatro cámaras a través de la ventana paraesternal izquierda centrada en el ventrículo derecho.

En pacientes con HTP, un valor de TAPSE inferior al rango de referencia se asocia a una disminución de la función sistólica ventricular derecha y se relaciona a una elevada mortalidad. En medicina humana, los valores fisiológicos están establecidos entre 1.5-2 cm, pero en medicina veterinaria son necesarios más estudios para determinar estos valores con precisión. En un estudio, perros con HTP severa mostraron valores de TAPSE inferiores a los intervalos de referencia (Pariat et al., 2012). (Imagen 40)

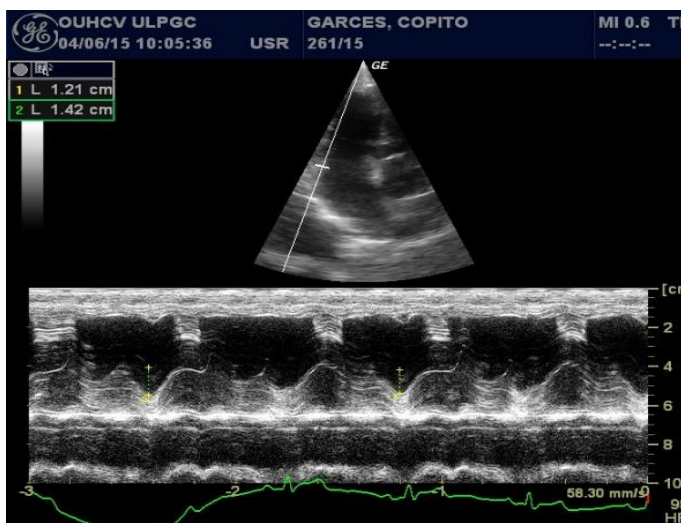


Imagen 40 Medición de TAPSE en modo M a nivel del aspecto lateral del anillo de la válvula tricúspide visto en el corte apical de cuatro cámaras por la ventana paraesternal izquierda centrado en el ventrículo derecho.

Existen técnicas ecocardiográficas más avanzadas para el diagnóstico de HTP, pero no se utilizan de manera común. Estas técnicas incluyen el índice Tei y técnicas de Doppler tisular.

## 3.23 TRATAMIENTO

Una vez identificada y tratada la causa subyacente, se puede iniciar tratamiento específico frente a la HTP utilizando medicamentos para ayudar a reducir la presión arterial pulmonar y la carga en el ventrículo derecho. El tratamiento debe enfocarse en reducir los signos clínicos: mejorar la intolerancia al ejercicio, disnea y tos y disminuir los episodios sincopales, buscando una mejora de la calidad de vida y el tiempo de supervivencia. El tratamiento deberá iniciarse en cualquier paciente con enfermedad clase funcional III o IV, con el objetivo de asignarlos a la clase I o II (Quinn and Williams, 2011b).

### 3.23.1 Análogos de la prostaciclina

La prostaciclina es un vasodilatador, antiagregante plaquetario y también tiene efectos antiproliferativos (Kitabatake et al., 1983; McLaughlin et al., 2009). Los análogos de la prostaciclina incluyen el epoprostenol, treprostnil, y el iloprost. El epoprostenol y trepostinil se administran



por vía intravenosa mientras que el treprostinil puede administrarse por vía subcutánea y el iloprost por vía inhalatoria. En humanos, estos medicamentos mejoran los síntomas y la supervivencia. Los efectos secundarios incluyen anemia, trombocitopenia, hipotensión y síntomas gastrointestinales (McLaughlin et al., 2009)

A nivel experimental, los análogos de la prostaciclina son eficaces en el tratamiento de la HTP canina, pero no hay evidencias clínicas publicadas. Desafortunadamente, los análogos de la prostaciclina tienen un precio muy elevado y no son asequibles en la práctica veterinaria de pequeños animales.

### 3.23.2 Antagonistas de la ET-1

Es posible reducir la presión arterial pulmonar al antagonizar las acciones de la ET-1. Los antagonistas de la ET-1 más comunes incluyen bosentán, sitaxsentan y el ambrisentan. Estos medicamentos se administran vía oral y en seres humanos han mejorado la tolerancia al ejercicio y han disminuido la presión arterial pulmonar y la resistencia pulmonar (Kim et al., 2000; Chiavegato et al., 2009).

En perros con HTP inducida experimentalmente, el bosentán demostró eficacia para reducir la remodelación vascular y mejorar la función miocárdica y reducir el remodelamiento ventricular (Kim et al., 2000). Aunque menos caros que los análogos de la prostaciclina, presentan igualmente un elevado precio y se consideran inasequibles para pacientes veterinarios.

### 3.23.3 Óxido nítrico (NO) y nitratos

El NO es un vasodilatador administrado vía inhalatoria, mientras que el dinitrato de isosorbide y el mononitrato de isosorbide son vasodilatadores de administración oral. Los nitratos se administran a las personas por sus efectos antianginosos, pero tienen una aplicación limitada para tratar la HTP. Estos medicamentos no son utilizados de manera común en medicina veterinaria a causa de sus efectos secundarios potencialmente graves. La L-arginina, el precursor del NO, se ha administrado en personas con HTP; se administra por vía oral y puede mejorar las concentraciones del NO ocasionando vasodilatación (Romand et al., 1994; Mehta et al., 1995).

### 3.23.4 Inhibidores de la fosfodiesterasa 5 (PDE-5)

Los inhibidores de la PDE-5 incluyen al sildenafil, tadalafil y vardenafil. La PDE-5 se encuentra en altas concentraciones en los vasos pulmonares; al ser inhibida, las concentraciones de cGMP aumentan y se promueve la vasodilatación.

En humanos, los inhibidores de PDE-5 causan vasodilatación arterial pulmonar, pero hay diferencias sutiles entre los tres principios activos respecto al inicio y duración de la acción, grado de reducción de la resistencia vascular pulmonar y la habilidad para revertir la hipertrofia cardiaca (Ghofrani et al., 2004).

El sildenafil es un inhibidor de la PDE-5 de acción corta. Se ha evaluado para tratar la HTP canina en ambientes clínicos y ha demostrado reducir la presión arterial pulmonar, mejorar la calidad de vida y aumentar el tiempo de supervivencia (Silva et al., 2014). El sildenafil tiene efectos secundarios gastrointestinales poco frecuentes y, aunque relativamente caro, resulta accesible para pacientes veterinarios. Se considera el fármaco de elección para tratar la HTP en perros y la dosis recomendada es de 1 a 3 mg/kg por vía oral cada 8 a 12 horas.

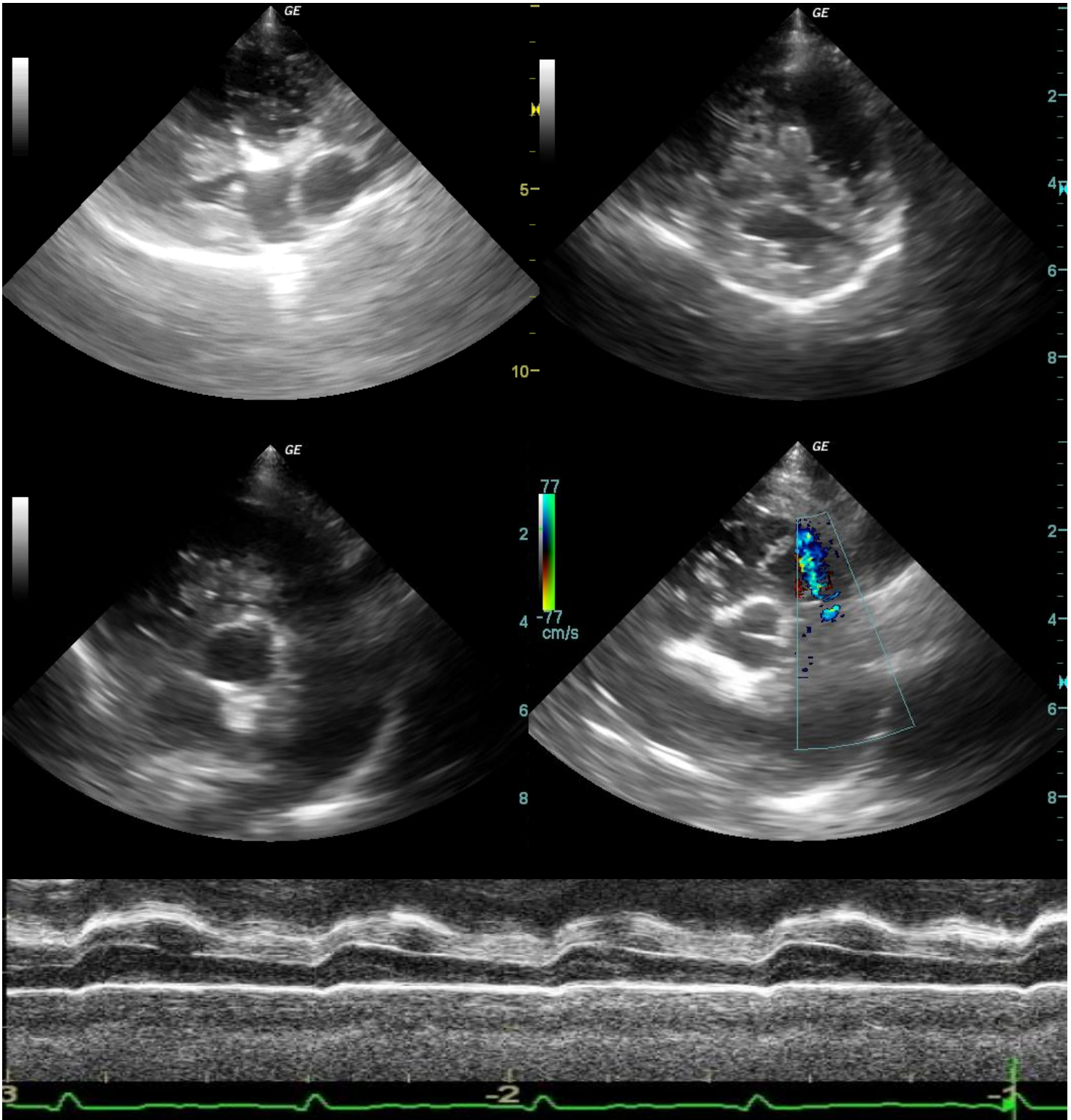
El tadalafil es un inhibidor de la PDE-5 de acción prolongada. Únicamente se ha publicado un caso que evalúa este tratamiento en un perro diagnosticado con HTP idiopática; tras recibir tadalafil (1 mg/kg cada 48 horas, vía oral) redujo la presión arterial pulmonar y mostró mejoría de los síntomas; sin embargo, fue eutanasiado tras 10 días debido a presencia de debilidad, temblores y anorexia (Serres et al., 2006).

El pimobendan y el levosimendan son medicamentos de mecanismo dual. Ejercen efectos inotrópicos positivos relacionados con la sensibilización al calcio, así como efectos vasodilatadores mediados por la inhibición de la PDE-3. Desde el punto de vista clínico, el pimobendan ha demostrado mejorar la HTP secundaria a enfermedad degenerativa de la válvula mitral (clase clínica II) (Atkinson et al., 2009).



## 4 ARTÍCULOS

---



## ARTICULOS

1. B. Serrano-Parreño<sup>a</sup>, E. Carretón<sup>a\*</sup>, A. Caro-Vadillo<sup>b</sup>, Y. Falcón-Cordón<sup>a</sup>, S. Falcón-Cordón<sup>a</sup>, J.A. Montoya-Alonso<sup>a</sup>. **Evaluation of pulmonary hypertension and clinical status in dogs with heartworm by Right Pulmonary Artery Distensibility Index and other echocardiographic parameters.** (Publicado). Parasites & Vectors (2017) 10:106.
2. B. Serrano-Parreño<sup>a</sup>, E. Carretón<sup>a\*</sup>, A. Caro-Vadillo<sup>b</sup>, S. Falcón-Cordón<sup>a</sup>, Y. Falcón-Cordón<sup>a</sup>, J.A. Montoya-Alonso<sup>a</sup>. **Pulmonary hypertension in dogs with heartworm before and after the adulticide protocol recommended by the American Heartworm Society.** (Publicado). Veterinary Parasitology 236 (2017) 34–37.






## RESEARCH

## Open Access



# Evaluation of pulmonary hypertension and clinical status in dogs with heartworm by Right Pulmonary Artery Distensibility Index and other echocardiographic parameters

B. Serrano-Parreño<sup>1</sup>, E. Carretón<sup>1\*</sup> , A. Caro-Vadillo<sup>2</sup>, Y. Falcón-Cordón<sup>1</sup>, S. Falcón-Cordón<sup>1</sup> and J. A. Montoya-Alonso<sup>1</sup>

## Abstract

**Background:** Pulmonary hypertension (PH) is a frequent and severe phenomenon in heartworm disease caused by *Dirofilaria immitis*, mainly caused by intimal proliferation of the arteries and pulmonary thromboembolisms. Transthoracic echocardiography is the method of choice for diagnosing PH in dogs although the diagnosis is often based on indirect and subjective parameters. The Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index) is a method that has been recently validated to estimate the presence and severity of PH in heartworm-infected dogs. This study compared some echocardiographic parameters commonly used to estimate PH in 93 dogs infected by *D. immitis* and evaluated the impact of the parasite burden, microfilaremia, sex or origin of the dog (client-owned/shelter).

**Results:** None of the studied echocardiographic variables seemed useful in the estimation of the evaluated clinical aspects, except for the PA/Ao ratio for parasite burden. The RPAD Index was determined in 88 of the dogs; of these, 70.4% had PH (mild: 37.5%, moderate: 19.3%, severe: 13.6%). This Index showed non-significant differences according to microfilaremia, sex, origin or parasite burden. Symptomatic dogs showed PH more often and displayed more severe PH, in addition the presence of symptoms was greater among dogs with high burden; on the other hand 64.4% of asymptomatic dogs had some degree of PH according to the RPAD Index. Apart from the PA/Ao ratio, the other evaluated echocardiographic variables were not useful in evaluating of the hypertensive status of the heartworm-infected dog compared to the RPAD Index.

**Conclusions:** The estimation of most common indirect parameters is not useful in predicting PH in heartworm-infected dogs. The results confirm the RPAD Index as an objective and supportive test in the monitoring and evaluation of PH in the heartworm-infected dog, and show a potential diagnostic value for the detection of PH in asymptomatic animals.

**Keywords:** Heartworm, *Dirofilaria immitis*, Echocardiography, Pulmonary hypertension, Pulmonary artery, Endarteritis

\* Correspondence: elena.carreton@ulpgc.es

<sup>1</sup>Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Research Institute of Biomedical and Health Sciences (IUIBS), University of Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2017 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

## Background

Heartworm disease caused by *Dirofilaria immitis* is a cosmopolitan, worldwide distributed vector-borne disease, endemic in areas with high temperatures and humidity which in turn favor the proliferation of the mosquito vector of the infection [1]. *Dirofilaria immitis* mainly affects pulmonary arteries, causing intimal proliferation of the occupied arteries and pulmonary thromboembolisms caused by embolic worm fragments. These events chronically lead to pulmonary hypertension (PH) which is one of the main causes to induce clinical signs and, if not treated, chronically leads to cardiac disease [2].

Transthoracic Doppler echocardiography provides a noninvasive and readily available method for estimating pulmonary arterial pressure in conscious animals and is the method of choice for diagnosing naturally occurring PH in veterinary patients [3]. However, the diagnosis of PH is often based on indirect and subjective parameters, specifically when tricuspid regurgitation and/or pulmonary insufficiency are not present, which only help to partially quantify the disease severity. Recently, the Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index), which is calculated as the difference in diameter of the right pulmonary artery in systole and diastole as measured by M-mode, was validated as a valuable method for estimating the presence and severity of PH in heartworm-infected dogs [4]. However, this index has not been compared in dogs with *D. immitis* to other indirect measurements commonly used to estimate PH in veterinary patients; nor has its usefulness in evaluating different aspects of the clinical status of infected dogs been established.

On this basis, the aims of this study were (i) to evaluate several common echocardiographic measurements in 2D mode, M-mode and Doppler in dogs infected with *D. immitis*, to determine the sensitivity of the echocardiographic changes in infected dogs in comparison with the RPAD Index, and (ii) to assess the usefulness of the classic echocardiographic measurements and/or RPAD Index in relation to some clinical aspects of the infected dogs. These are presence/absence of symptoms, parasite burden and presence of microfilaremia.

## Methods

In the present study, 93 dogs presented to the Veterinary Teaching Hospital of the University of Las Palmas de Gran Canaria were included. The dogs lived in a hyper-endemic area of *D. immitis* [5, 6]. Of these, 62 were client-owned and 31 were from a local shelter.

None of the animals had received previous treatment for heartworm infection. A complete record was kept for each animal, including identification (age, sex, and breed), clinical history, and demographic data. There were 51 females and 42 males, with a mean age of 5.3 years.

All tested positive to circulating *D. immitis* antigens using a commercial immunochromatographic test kit (Urano test *Dirofilaria*®, Urano Vet SL, Barcelona, Spain). Dogs were further evaluated for the presence or absence of microfilariae using a modified Knott test.

Dogs underwent echocardiographic examination, using an ultrasound machine with spectral and color Doppler and multifrequency probes (5.5–10 MHz) (Logic P5, General Electric, New York, USA). The dogs were placed in right lateral recumbence with the transducer placed in the third intercostal space. Dogs were conscious and under electrocardiographic monitoring during the whole test. For each measurement, six continuous cardiac cycles were recorded. All the echocardiographic records were carried out by the same researcher.

The presence of worms visible in the pulmonary arteries and right cardiac chambers was assessed. The worm burden was classified according to Venco et al. [7]; a low to high worm burden score ranging from 1 to 4 was assigned as follows: (i) no worms visualized; (ii) few worm echoes in the distal part of the right pulmonary artery; (iii) worm echoes occupying the right pulmonary artery and extending to the main pulmonary artery; and (iv) worm echoes occupying the whole right pulmonary artery and the main pulmonary artery to the level of pulmonary valve.

The following parameters were determined by means of spectral Doppler: pulmonary flow acceleration time (AT), pulmonary flow ejection time (ET), AT/ET ratio, and maximum velocity of the blood flow through the pulmonary artery (PAV<sub>max</sub>). Presence or absence of tricuspid regurgitation (TR) and pulmonary regurgitation (PR) as well as the difference gradient between RV/RA and PA/RV were also assessed. By standard two-dimensional mode, the following was determined: main pulmonary artery/aorta ratio (PA/Ao ratio), left atrial (LAV) and right atrial (RAV) volumes, left atrial (LAA) and right atrial (RAA) areas. By M-mode, the measured parameters were: fractional shortening (FS), ejection fraction (EF), right ventricular internal diameter in telediastole (RVIDD) and left ventricular internal diameter in telediastole (LVIDD), RVIDD/LVIDD ratio, right ventricle wall thickness (RVWT), left ventricle posterior wall thickness (LVPWT), RVWT/LVPWT ratio, and tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE). The RPAD Index was determined as described by Venco et al. [4] and was performed in 88 dogs of the present study.

The 88 dogs evaluated by the RPAD Index were further classified into two groups according to presence or absence of symptoms. Dogs were considered as symptomatic when there was presence of one or more symptoms related to heartworm disease (dyspnea, cough, exercise intolerance, weakness, loss of weight, syncope).

The data were analyzed using the SPSS Base 19.0 software for Windows. Continuous variables were



expressed as median  $\pm$  standard deviation according to the Kolmogorov-Smirnov test. Qualitative variables are expressed as percentages. The non-parametric Mann-Whitney *U*-test was used to determine the association between quantitative and categorical variables, along with the Chi square test. In all cases, a *P* value  $< 0.05$  was determined as significant.

## Results

Of the 93 dogs, 52 (55.9%) were microfilaremic and 41 (44.1%) were amicrofilaremic. When parasite burden was evaluated, 75 (80.6%) dogs were considered to have a low parasite burden (score 1 and 2) and 18 (19.4%) were classified as having a high parasite burden (score 3 and 4).

When the presence or absence of microfilariae was compared, there were no statistically significant differences in any of the evaluated echocardiographic measurements. When the dogs were compared by parasite burden, it was observed that only the echocardiographic values of PA/Ao ratio showed statistically significant differences between both groups of dogs ( $Z = -2.004$ ,  $P = 0.045$ ).

Compared by sex, statistically significant differences were found in RVIDD ( $Z = -2.089$ ,  $P = 0.037$ ), LVIDD ( $Z = -2.131$ ,  $P = 0.033$ ), RVIDD/LVIDD ( $Z = -2.563$ ,  $P = 0.01$ ) and LAA ( $Z = -2.803$ ,  $P = 0.005$ ). By origin of the dog (client-owned/shelter), significant differences were found in AT ( $Z = -2.228$ ,  $P = 0.026$ ) and ET ( $Z = -2.965$ ,  $P = 0.003$ ). The mean values of the measured parameters by category are shown in Table 1.

Absence or presence of PH, as well as the severity, was based on the determination of the RPAD Index. According to Venco et al. [4], a RPAD Index between 35% and 28% was correlated with mild PH (30–55 mm Hg), between 27% and 23% with moderate PH (56–79 mm Hg) and between 22% or less with severe PH ( $> 79$  mm Hg). Of the dogs measured ( $n = 88$ ), 29.6% (26/88) did not have PH, and 70.4% (62/88) were hypertensive, showing mild PH 37.5% (33/88), moderate PH 19.3% (17/88) and severe PH 13.6% (12/88).

When the dogs were compared by PH status (normotensive vs hypertensive), none of the echocardiographic parameters showed statistically significant differences between groups, except the PA/Ao ratio ( $Z = -2.310$ ,  $P = 0.02$ ). On the other hand, when the dogs were compared by severity of PH, no statistically significant differences were found in any of the studied parameters. The TAPSE value was abnormal in all animals, regardless of the presence or absence of PH.

TR and/or PR were present in 27 dogs. The gradients were not consistent with pulmonary hypertension whether they be systolic or diastolic. PR was present in 25 dogs (mean velocity flow:  $1.24 \pm 0.87$  m/s; mean gradient:  $9.16 \pm 12.76$  mm Hg) and TR was present in 11 dogs (mean velocity flow:  $1.35 \pm 0.93$  m/s; mean gradient:  $11.25 \pm$

$14.88$  mm Hg). The mean RPAD Index for dogs with TR was  $29.9 \pm 7.8\%$ , and for dogs with PR was  $27.9 \pm 7.9\%$ .

The RPAD Index showed not statistically significant differences according to parasite burden, microfilaremic status, sex or origin of the animals. When presence/absence of symptoms was evaluated, a statistically significant difference was observed in the RPAD Index between symptomatic dogs ( $n = 29$ ; mean RPAD Index:  $26.8 \pm 9.3\%$ ) and asymptomatic dogs ( $n = 59$ ; mean RPAD Index:  $35.4 \pm 8.3\%$ ) ( $Z = -3.942$ ,  $P < 0.0001$ ) (Table 2). Furthermore, a significant difference was found between presence/absence of symptoms and the parasite burden ( $\chi^2 = 8.394$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.005$ ) (Table 3).

## Discussion

In heartworm disease, embolism of dead heartworms can cause acute clinical signs of PH, while proliferative intimal changes lead to irreversible structural damage to the vasculature and sustained PH [2, 8]. An objective determination of PH is important given that it is a frequent and severe phenomenon in heartworm disease.

Except for the PA/Ao ratio, the results showed no significant differences in the studied echocardiographic parameters between dogs with PH and without PH measured by RPAD Index; moreover, there were no significant differences in any parameter by degrees of PH. Traditionally, the evaluation of the presence of PH in dogs has been determined from clinical and indirect echocardiographic findings when tricuspid regurgitation and/or pulmonary insufficiency were not present [3]. Previous reports have studied the diagnostic value of AT, AT:ET, and PA/Ao ratio in predicting PH [9–11]; although some accuracy was found, the authors indicated that the described variables were hindered by relatively low sensitivity and specificity values (PA/Ao ratio) or technical and alignment limitations (AT, AT:ET ratio); studies also concluded that the RPAD Index may be useful and predictive of PH in dogs when tricuspid regurgitation is absent [11]. These observations are in accordance with the results from the present study, which showed that only the PA/Ao ratio presented some significance when comparing normotensive dogs versus hypertensive dogs, but this significance disappeared when hypertensive dogs were evaluated by severity of PH. Furthermore, based on the results, the estimation of most common indirect parameters was not useful in predicting PH in heartworm-infected dogs against the RPAD Index and showed that the estimation of the studied echocardiographic measurements presented little usefulness when comparing parasite burden, presence of microfilaremia, sex or origin of the animal.

The PA/Ao ratio was also significantly greater in dogs with high parasite burden in comparison with dogs with low burden; however, the parasite burden seems to have no effect in the RPAD Index. This difference could be due to the mechanical pressure caused by the presence

**Table 1** Echocardiographic parameters measured in the present study

|                        | Microfilaraemia  |                 | Parasite burden          |                          | Sex                      |                          | Origin                   |                          | Presence/Absence PH       |                           |                           |                           |                           |
|------------------------|------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                        | Amicrofilaraemic | Microfilaraemic | High burden              | Low burden               | Male                     | Female                   | Client-owned             | Shelter                  | RPAD Index $\geq$ 36%     | RPAD Index $\leq$ 35%     | RPAD Index 28–35%         | RPAD Index 23–27%         | RPAD Index $\leq$ 22%     |
| n                      | 41               | 52              | 18                       | 75                       | 42                       | 51                       | 62                       | 31                       | 26                        | 62                        | 33                        | 17                        | 12                        |
| AT (ms)                | 0.08 ± 0.02      | 0.08 ± 0.02     | 0.08 ± 0.02              | 0.08 ± 0.02              | 0.08 ± 0.02              | 0.08 ± 0.02              | 0.08 ± 0.02 <sup>c</sup> | 0.09 ± 0.02 <sup>c</sup> | 0.08 ± 0.02               | 0.08 ± 0.02               | 0.07 ± 0.02               | 0.09 ± 0.02               | 0.07 ± 0.02               |
| ET (ms)                | 0.21 ± 0.04      | 0.22 ± 0.11     | 0.23 ± 0.05              | 0.21 ± 0.09              | 0.22 ± 0.12              | 0.21 ± 0.05              | 0.21 ± 0.10 <sup>c</sup> | 0.22 ± 0.03 <sup>c</sup> | 0.23 ± 0.15               | 0.21 ± 0.05               | 0.20 ± 0.03               | 0.22 ± 0.05               | 0.21 ± 0.08               |
| AT/ET                  | 0.40 ± 0.10      | 0.37 ± 0.11     | 0.37 ± 0.11              | 0.39 ± 0.11              | 0.40 ± 0.11              | 0.38 ± 0.11              | 0.38 ± 0.12              | 0.39 ± 0.08              | 0.40 ± 0.09               | 0.38 ± 0.12               | 0.37 ± 0.08               | 0.41 ± 0.14               | 0.38 ± 0.17               |
| PAV <sub>max</sub>     | 0.80 ± 0.17      | 0.90 ± 0.31     | 0.87 ± 0.29              | 0.82 ± 0.20              | 0.85 ± 0.20              | 0.84 ± 0.28              | 0.85 ± 0.13              | 0.83 ± 0.22              | 0.89 ± 0.23               | 0.83 ± 0.26               | 0.82 ± 0.19               | 0.85 ± 0.18               | 0.84 ± 0.47               |
| PA/Ao                  | 1.02 ± 0.13      | 1.02 ± 0.15     | 1.03 ± 0.15 <sup>a</sup> | 1.01 ± 0.13 <sup>a</sup> | 1.02 ± 0.17              | 1.03 ± 0.12              | 1.01 ± 0.13              | 1.05 ± 0.17              | 0.97 ± 0.09 <sup>d</sup>  | 1.05 ± 0.15 <sup>d</sup>  | 1.03 ± 0.12               | 1.06 ± 0.17               | 1.09 ± 0.21               |
| LAV (cm)               | 7.68 ± 5.79      | 7.60 ± 5.95     | 7.85 ± 5.58              | 7.89 ± 5.90              | 8.54 ± 5.44              | 7.17 ± 5.79              | 7.50 ± 5.56              | 8.28 ± 5.85              | 6.98 ± 5.45               | 8.00 ± 5.68               | 8.76 ± 6.70               | 6.30 ± 2.46               | 8.61 ± 6.13               |
| RAV (cm)               | 6.16 ± 4.53      | 5.59 ± 3.64     | 5.80 ± 3.45              | 5.86 ± 3.86              | 6.13 ± 3.60              | 5.82 ± 4.22              | 5.83 ± 4.10              | 6.20 ± 3.68              | 4.69 ± 3.22               | 6.43 ± 4.17               | 6.50 ± 4.07               | 6.03 ± 3.57               | 6.91 ± 5.57               |
| LAA (cm <sup>2</sup> ) | 4.69 ± 2.19      | 4.33 ± 2.25     | 4.53 ± 2.10              | 4.75 ± 2.21              | 5.20 ± 1.94 <sup>b</sup> | 4.13 ± 2.18 <sup>b</sup> | 4.52 ± 2.17              | 4.74 ± 2.09              | 4.44 ± 2.23               | 4.63 ± 2.09               | 4.93 ± 2.37               | 4.42 ± 0.97               | 4.10 ± 2.58               |
| RAA (cm <sup>2</sup> ) | 4.33 ± 2.23      | 4.02 ± 2.28     | 4.09 ± 2.08              | 4.20 ± 2.24              | 4.40 ± 1.70              | 4.04 ± 2.43              | 4.27 ± 2.39              | 4.07 ± 1.62              | 3.69 ± 1.91               | 4.42 ± 2.25               | 4.54 ± 2.52               | 4.34 ± 1.84               | 4.22 ± 2.25               |
| FS (%)                 | 39.69 ± 10.64    | 40.80 ± 7.09    | 39.85 ± 7.56             | 39.69 ± 9.26             | 39.98 ± 9.82             | 39.61 ± 8.37             | 39.84 ± 9.13             | 39.67 ± 8.92             | 38.13 ± 7.29              | 40.73 ± 9.71              | 38.5 ± 7.57               | 42.73 ± 13.41             | 44.22 ± 8.27              |
| EF (%)                 | 68.96 ± 12.98    | 72.37 ± 8.35    | 71.05 ± 8.86             | 69.77 ± 11.22            | 69.64 ± 11.49            | 70.53 ± 10.43            | 70.11 ± 10.85            | 70.14 ± 11.12            | 69.06 ± 9.11              | 70.83 ± 11.70             | 68.84 ± 9.38              | 70.98 ± 16.52             | 76.09 ± 8.74              |
| RVIDD (cm)             | 1.03 ± 0.53      | 0.92 ± 0.42     | 0.93 ± 0.43              | 0.96 ± 0.46              | 0.85 ± 0.39 <sup>b</sup> | 1.07 ± 0.51 <sup>b</sup> | 0.94 ± 0.49              | 1.04 ± 0.45              | 0.91 ± 0.42               | 1.02 ± 0.50               | 0.98 ± 0.49               | 1.09 ± 0.40               | 1.06 ± 0.65               |
| LVIDD (cm)             | 2.84 ± 0.87      | 2.99 ± 0.80     | 3.00 ± 0.75              | 3.00 ± 0.79              | 3.14 ± 0.82 <sup>b</sup> | 2.76 ± 0.76 <sup>b</sup> | 2.91 ± 0.82              | 2.98 ± 0.8               | 2.79 ± 0.80               | 2.99 ± 0.81               | 3.00 ± 0.86               | 2.96 ± 0.65               | 3.01 ± 0.92               |
| RVIDD/LVIDD            | 0.40 ± 0.30      | 0.33 ± 0.18     | 0.33 ± 0.17              | 0.34 ± 0.17              | 0.30 ± 0.17 <sup>b</sup> | 0.42 ± 0.27 <sup>b</sup> | 0.36 ± 0.27              | 0.37 ± 0.17              | 0.35 ± 0.18               | 0.37 ± 0.27               | 0.35 ± 0.19               | 0.38 ± 0.15               | 0.44 ± 0.50               |
| RWWT (cm)              | 0.60 ± 0.15      | 0.57 ± 0.20     | 0.55 ± 0.19              | 0.56 ± 0.17              | 0.56 ± 0.16              | 0.59 ± 0.18              | 0.57 ± 0.18              | 0.59 ± 0.16              | 0.56 ± 0.15               | 0.58 ± 0.18               | 0.57 ± 0.18               | 0.61 ± 0.16               | 0.56 ± 0.23               |
| LVPWT (cm)             | 0.87 ± 0.23      | 0.85 ± 0.23     | 0.85 ± 0.24              | 0.87 ± 0.24              | 0.86 ± 0.25              | 0.86 ± 0.22              | 0.88 ± 0.26              | 0.82 ± 0.18              | 0.82 ± 0.23               | 0.88 ± 0.24               | 0.89 ± 0.22               | 0.82 ± 0.21               | 0.92 ± 0.33               |
| RWWT/LVPWT             | 0.72 ± 0.20      | 0.68 ± 0.21     | 0.66 ± 0.20              | 0.67 ± 0.21              | 0.68 ± 0.21              | 0.69 ± 0.20              | 0.67 ± 0.22              | 0.72 ± 0.16              | 0.72 ± 0.21               | 0.68 ± 0.20               | 0.66 ± 0.19               | 0.76 ± 0.19               | 0.66 ± 0.22               |
| TAPSE (cm)             | 1.34 ± 0.38      | 1.39 ± 0.32     | 1.36 ± 0.30              | 1.35 ± 0.33              | 1.35 ± 0.34              | 1.36 ± 0.33              | 1.38 ± 0.36              | 1.29 ± 0.26              | 1.43 ± 0.36               | 1.32 ± 0.32               | 1.34 ± 0.36               | 1.35 ± 0.24               | 1.23 ± 0.27               |
| RPAD Index (%)         | 32.77 ± 8.67     | 32.42 ± 10.22   | 32.96 ± 12.2             | 32.73 ± 8.85             | 32.67 ± 9.50             | 32.51 ± 9.62             | 32.48 ± 9.54             | 32.77 ± 9.64             | 43.58 ± 6.58 <sup>d</sup> | 27.97 ± 6.19 <sup>d</sup> | 32.71 ± 2.19 <sup>d</sup> | 25.87 ± 1.42 <sup>d</sup> | 17.89 ± 3.21 <sup>d</sup> |

Statistically significant differences ( $P < 0.05$ ) compared by parasite burden (<sup>a</sup>), sex (<sup>b</sup>), origin (<sup>c</sup>) and presence/absence of pulmonary hypertension (<sup>d</sup>). Abbreviations: AT pulmonary artery flow acceleration time, ET pulmonary artery flow ejection time, PAV<sub>max</sub> maximum velocity of the blood flow through pulmonary artery, PA/Ao main pulmonary artery/aorta ratio, LAV left atrial volume, RAV right atrial volume, LAA left atrial area, RAA right atrial area, RAA right atrial area, FS fractional shortening, EF ejection fraction, RVIDD right ventricular internal diameter in telediastole, LVIDD left ventricular internal diameter in telediastole, RWWT right ventricular wall thickness, LVPWT left ventricular posterior wall thickness, TAPSE tricuspid annular plane systolic excursion, RPAD Index Right Pulmonary Artery Distensibility Index, PH pulmonary hypertension



**Table 2** Dogs classified by the RPAD Index and according to the presence/absence of symptoms and by parasite burden. Data are shown as number of dogs (*n*). Animals were considered having mild pulmonary hypertension (30–55 mm Hg) with a RPAD Index between 28% and 35%, moderate pulmonary hypertension (56–79 mm Hg) with a RPAD Index between 23% and 27% and severe pulmonary hypertension (> 79 mm Hg) with a RPAD Index ≤ 22%. When the RPAD Index was ≥ 36% the dog was considered normotensive

|                               | Symptomatic | Asymptomatic | High burden | Low burden |
|-------------------------------|-------------|--------------|-------------|------------|
| Normotensive ( <i>n</i> = 26) | 5           | 21           | 8           | 18         |
| Hypertensive ( <i>n</i> = 62) | 24          | 38           | 17          | 45         |
| Mild PH ( <i>n</i> = 33)      | 5           | 28           | 8           | 25         |
| Moderate PH ( <i>n</i> = 17)  | 8           | 9            | 4           | 13         |
| Severe PH ( <i>n</i> = 12)    | 11          | 1            | 5           | 7          |
| TOTAL ( <i>n</i> = 88)        | 29          | 59           | 25          | 63         |

Abbreviation: PH pulmonary hypertension

of a larger amount of parasites in the pulmonary arteries. However further studies should be carried out to evaluate this conclusion.

Significant differences were found in the AT and ET parameters as regards the origin of the animal (client owned/shelter). There is not a clear explanation for this; some authors reported that, in addition to the pulmonary pressure, the ET and AT can be influenced by other factors like heart rate, cardiac output or function of the right ventricle [12]. Also, the ET can be influenced because the accuracy of the flow velocities can be affected by its anatomical displacement in patients with dilated pulmonary arteries and high pulsed-wave Doppler gain which might underestimate exact time measurements [13]. Furthermore, Visser et al. [11] described that correct measurements of AT and ET can be difficult to acquire in dyspneic dogs.

The differences found in the results of RVIDD, LVIDD, RVIDD/LVIDD and LAA by sex could be attributed to physiological differences in the size of the animals.

All studied dogs showed an abnormal TAPSE value, an echocardiographic measurement that allows the assessment of the right ventricular systolic function which is a strong predictor of outcome in human patients with PH [14]. It has also been described that patients with either left or right ventricular systolic dysfunction had statistically smaller TAPSE than patients with normal biventricular systolic function [15].

It was observed that the dogs showing any symptom compatible with heartworm disease showed PH more

often and in general more severely than the asymptomatic dogs. Similarly, the presence of symptoms was more prevalent among dogs with high parasite burden. It seems reasonable to associate the presence of some symptoms with the consequences of high pulmonary pressure; also, a high parasite burden has been linked to high levels of serum biomarkers of cardiopulmonary and inflammatory damage in dogs with *D. immitis* [16–18]. More importantly, just as not all the symptomatic dogs from the present study were hypertensive, the results showed that a high percentage of asymptomatic dogs had some degree of PH. This highlights the importance of early detection of this condition by objective methods, which could allow appropriate therapeutic measures aimed at minimizing the evolution of the vascular damage.

Moreover, the RPAD Index can be seen as a more sensitive marker for PH since, although 27 of the 62 hypertensive dogs showed presence TR and/or PR, none of them showed values consistent with pulmonary hypertension.

No significant changes were observed in the RPAD Index regarding the microfilaremic status, sex or origin of the dog. In addition, the parasite burden did not significantly affect the RPAD Index. Furthermore, the results showed a high percentage of dogs with PH and low worm burden, which is in accordance with previous observations made by other authors who reported that the severity of hypertension does not correlate with the number of parasitic worms and factors such as intensity of exercise and lower parasite burden in older dogs, this being due to natural death of the worms [7, 19]. Other factors that may contribute to the vascular endarteritis and therefore development of hypertension are currently being studied [20].

## Conclusions

Based on these results, none of the classic echocardiographic parameters studied seemed useful in estimating the severity of PH and other clinical aspects.

**Table 3** Dogs compared by presence/absence of symptoms and by parasite burden (high burden/low burden). Data are shown as number of dogs (*n*)

|                              | Symptomatic | Asymptomatic |
|------------------------------|-------------|--------------|
| High burden ( <i>n</i> = 25) | 14          | 11           |
| Low burden ( <i>n</i> = 63)  | 15          | 48           |
| Total ( <i>n</i> = 88)       | 29          | 59           |

Moreover, these echocardiographic variables did not seem to offer any additional benefits in the evaluation of the hypertensive status of the heartworm-infected dog compared to the RPAD Index, which previously showed a strong correlation with invasive pulmonary arterial pressures demonstrating its potential diagnostic value in dogs [4]. The results confirm the RPAD Index as an objective and supportive test in the monitoring and evaluation of the heartworm-infected dog and show its diagnostic value in the early detection of PH in asymptomatic animals, which could facilitate appropriate therapeutic measures aimed at minimizing the evolution of the vascular damage. Although additional studies would be necessary to consolidate these conclusions, these results encourage the use of the RPAD Index as a standardized method for assessing the hypertensive status of the heartworm-infected dogs.

#### Abbreviations

AT: Pulmonary flow acceleration time; EF: Ejection fraction; ET: Pulmonary flow ejection time; FS: Fractional shortening; LAA: Left atrial area; LAV: Left atrial volume; LVIDD: Left ventricular internal diameter in telediastole; LVPWT: Left ventricle posterior wall thickness; PA/Ao ratio: Main pulmonary artery/aorta ratio; PAV max: Maximum velocity of the blood flow through the pulmonary artery; PH: Pulmonary hypertension; PR: Pulmonary regurgitation; RA: Right atrium; RAA: Right atrial area; RAV: Right atrial volume; RPAD Index: Right Pulmonary Artery Distensibility Index; RV: Right ventricle; RVIDD: Right ventricular internal diameter in telediastole; RVWT: Right ventricle wall thickness; TAPSE: Tricuspid annular plane systolic excursion; TR: Tricuspid regurgitation

#### Acknowledgements

Not applicable.

#### Funding

This research was partially supported by the Mexican National Council on Science and Technology (CONACYT) - Grant 314686.

#### Availability of data and material

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

#### Authors' contributions

EC, ACV and JAMA designed the study, analyzed the data and wrote the manuscript. BSP, YFC and SFC organized the fieldwork and participated in the data collections. All authors read and approved the final manuscript.

#### Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

#### Consent for publication

Not applicable.

#### Ethics approval and consent to participate

All the owners gave their consent to participate in this study. The study was approved by the ethical committee of the Veterinary Medicine Service of the University of Las Palmas de Gran Canaria and was carried out in accordance with the current European legislation on animal protection.

#### Author details

<sup>1</sup>Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Research Institute of Biomedical and Health Sciences (UIBS), University of Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain. <sup>2</sup>Department of Animal Medicine and Surgery, Veterinary Faculty, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain.

Received: 28 October 2016 Accepted: 18 February 2017

Published online: 28 February 2017

#### References

1. Simón F, Siles-Lucas M, Morchón R, González-Miguel J, Mellado I, Carretón E, et al. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(3):507–44.
2. McCall JW, Genchi C, Kramer LH, Guerrero J, Venco L. Heartworm disease in animals and humans. *Adv Parasitol.* 2008;66:193–285.
3. Kellihan HB, Stepien RL. Pulmonary hypertension in dogs: diagnosis and therapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2010;40(4):623–41.
4. Venco L, Mihaylova L, Boon JA. Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index). A field study of an echocardiographic method to detect early development of pulmonary hypertension and its severity even in the absence of regurgitant jets for Doppler evaluation in heartworm-infected dogs. *Vet Parasitol.* 2014;206(1–2):60–6.
5. Montoya-Alonso JA, Carretón E, Corbera JA, Juste MC, Mellado I, Morchón R, et al. Current prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs, cats and humans from the island of Gran Canaria, Spain. *Vet Parasitol.* 2011;176(4):291–4.
6. Montoya-Alonso JA, Carretón E, Morchón R, Silveira-Viera L, Falcón Y, Simón F. The impact of the climate on the epidemiology of *Dirofilaria immitis* in the pet population of the Canary Islands. *Vet Parasitol.* 2016;216:66–71.
7. Venco L, Genchi C, Vigevari Colson P, Kramer L. Relative utility of echocardiography, radiography, serologic testing and microfilariae counts to predict adult worm burden in dogs naturally infected with heartworms. In: Seward RL, Knight DH, editors. *Recent Advances in Heartworm Disease, Symposium'01*. Batavia, IL: American Heartworm Society; 2003. p. 111–24.
8. Bowman DD, Atkins CE. Heartworm biology, treatment, and control. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2009;39(6):1127–58.
9. Schober KE, Baade H. Doppler echocardiographic prediction of pulmonary hypertension in West Highland white terriers with chronic pulmonary disease. *J Vet Intern Med.* 2006;20(4):912–20.
10. Serres F, Chetboul V, Gouni V, Tissier R, Sampedrano CC, Pouchelon JL. Diagnostic value of echo-Doppler and tissue Doppler imaging in dogs with pulmonary arterial hypertension. *J Vet Intern Med.* 2007;21(6):1280–9.
11. Visser LC, Im MK, Johnson LR, Stern JA. Diagnostic value of right pulmonary artery distensibility index in dogs with pulmonary hypertension: comparison with Doppler echocardiographic estimates of pulmonary arterial pressure. *J Vet Intern Med.* 2016;30(2):543–52.
12. Yared K, Noseworthy P, Weyman AE, McCabe E, Picard MH, Baggish AL. Pulmonary artery acceleration time provides an accurate estimate of systolic pulmonary arterial pressure during transthoracic echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2011;24(6):687–92.
13. Tossavainen E, Söderberg S, Grönlund C, Gonzalez M, Henein MY, Lindqvist P. Pulmonary artery acceleration time in identifying pulmonary hypertension patients with raised pulmonary vascular resistance. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2013;14(9):890–7.
14. Pariaut R, Saelinger C, Strickland KN, Beaufrère H, Reynolds CA, Vila J. Tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) in dogs: reference values and impact of pulmonary hypertension. *J Vet Intern Med.* 2012;26(5):1148–54.
15. López-Candales A, Rajagopalan N, Saxena N, Gulyasy B, Edelman K, Bazaz R. Right ventricular systolic function is not the sole determinant of tricuspid annular motion. *Am J Cardiol.* 2006;98(7):973–7.
16. Carretón E, Corbera JA, Juste MC, Morchón R, Simón F, Montoya-Alonso JA. *Dirofilaria immitis* infection in dogs: cardiopulmonary biomarker levels. *Vet Parasitol.* 2011;176(4):313–6.
17. Carretón E, Morchón R, Simón F, Juste MC, Méndez JC, Montoya-Alonso JA. Cardiopulmonary and inflammatory biomarkers in the assessment of the severity of canine dirofilariasis. *Vet Parasitol.* 2014;206(1–2):43–7.
18. Méndez JC, Carretón E, Martínez S, Tvarijonavičiute A, Cerón JJ, Montoya-Alonso JA. Acute phase response in dogs with *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitol.* 2014;204(3–4):420–5.
19. Dillon RA, Brawner WR, Hanrahan L. Influence of number of parasites and exercise on the severity of heartworm disease in dogs. In: Sol MD, Knight DH, editors. *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*. Batavia, IL: American Heartworm Society; 1995. p. 113.
20. González-Miguel J, Morchón R, Carretón E, Montoya-Alonso JA, Simón F. Can the activation of plasminogen/plasmin system of the host by metabolic products of *Dirofilaria immitis* participate in heartworm disease endarteritis? *Parasit Vectors.* 2015;8:194.





Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Parasitology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/vetpar](http://www.elsevier.com/locate/vetpar)

Research paper

## Pulmonary hypertension in dogs with heartworm before and after the adulticide protocol recommended by the American Heartworm Society



B. Serrano-Parreño<sup>a</sup>, E. Carretón<sup>a,\*</sup>, A. Caro-Vadillo<sup>b</sup>, S. Falcón-Cordón<sup>a</sup>,  
Y. Falcón-Cordón<sup>a</sup>, J.A. Montoya-Alonso<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Research Institute of Biomedical and Health Sciences (IUIBS), University of Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

<sup>b</sup> Department of Animal Medicine and Surgery, Veterinary Faculty, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 25 October 2016

Received in revised form 13 January 2017

Accepted 1 February 2017

## Keywords:

Heartworm

*Dirofilaria immitis*

Echocardiography

Pulmonary hypertension

Pulmonary artery

Endarteritis

## ABSTRACT

Pulmonary hypertension (pH) is a frequent and severe phenomenon in heartworm disease (*Dirofilaria immitis*). There is a lack of studies assessing the evolution of the proliferative endarteritis and pH caused by *D. immitis* after the death of the parasites, so this study evaluated the influence that the elimination of the worms exerts over the pulmonary pressure and therefore evolution of the endarteritis, through the evaluation of the Right Pulmonary Artery Distensibility (RPAD) Index and other echocardiographic measurements in 2D mode, M-mode and Doppler echocardiography in 34 dogs naturally infected by *D. immitis* on day 0, and one month after the last adulticide dose (day 120). pH, based on the determination of the RPAD Index, was present in 68% of the dogs (n = 23) on day 0 and on day 120. No significant differences were observed between the RPAD Index between the two measurements, and only significant differences were found in pulmonary deceleration time, ejection time, and left ventricular internal diameter in telediastole when measurements from day 0 and day 120 were compared. There was not any worsening in the development of pH after the elimination of the parasites, independently of the parasite burden. During the adulticide treatment, the death of the worms causes thromboembolism and tends to worsen the vascular damage and presence of pH. It seems that following the adulticide protocol recommended by the American Heartworm Society with the previous elimination of *Wolbachia* and reduction of microfilariae followed by the stepped death of the worms did not cause a significant aggravation of the pulmonary damage of the treated dogs. Neither is present any significant improvement in the RPAD Index on day 120; probably, more time is needed before appreciating some positive changes after the elimination of the worms and *Wolbachia* from the vasculature and further studies are necessary.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

It has been previously demonstrated that heartworms (*Dirofilaria immitis*) cause proliferative endarteritis of the pulmonary arteries, one of the main pathogenic mechanisms of cardiopulmonary dirofilariosis (McCall et al., 2008). This endarteritis reduces the arterial lumen, the smaller arteries become obstructed because of embolization, and the arteries lose elasticity. The reduced gauge and compliance of the arteries chronically develops pulmonary hypertension (pH) which, if not treated correctly, can produce right

sided-congestive heart failure (McCall et al., 2008; Simón et al., 2012). This series of events are especially true in active dogs independently of the worm burden (Dillon et al., 1995). Other factors, as proteins secreted by the parasites and endogenous molecules, may contribute to the vascular endarteritis and therefore development of pH (Uchide and Saida, 2005; Venco et al., 2014a; González-Miguel et al., 2015).

In heartworm disease, endarteritis and pH are closely linked. It has been postulated that the determination of pH and serological factors could be extremely useful to determine the severity of the endarteritis and thus the chronicity of the disease (Uchide and Saida, 2005; Venco et al., 2014a; Venco et al., 2014b). Nowadays, the method of choice to diagnose pH in veterinary medicine is based on transthoracic Doppler echocardiography, which pro-

\* Corresponding author.

E-mail address: [elena.carreton@ulpgc.es](mailto:elena.carreton@ulpgc.es) (E. Carretón).



vides a noninvasive and readily available method for estimating pulmonary arterial pressure (Kelliher and Stepien, 2010). However, the diagnosis is often based on indirect and subjective parameters, specifically when tricuspid regurgitation and/or pulmonary insufficiency are difficult to obtain. Recently, the Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index) was validated as a valuable and objective method to estimate the presence and severity of pH in dogs infected by *D. immitis* (Vencko et al., 2014b). The RPAD Index is basically calculated as the difference in diameter of the right pulmonary artery in systole and diastole as measured by M-mode.

Nevertheless no studies have been published assessing the evolution of the endarteritis and pH after the death of the parasites, so the objective of this study was to evaluate the influence that the elimination of the worms exerts over the pulmonary pressure and therefore evolution of the endarteritis, through the evaluation of the RPAD Index and other echocardiographic measurements in 2D mode, M-mode and Doppler echocardiography in dogs naturally infected by *D. immitis*.

## 2. Materials and methods

34 client-owned dogs brought to the Veterinary Medicine Service of the University of Las Palmas de Gran Canaria were included in the study. The dogs lived in a hyper-endemic area of *D. immitis* (Montoya-Alonso et al., 2011; Montoya-Alonso et al., 2016). Seventeen were male and 17 were female and the age ranged from 2 to 6 years; 18 were mixed-bred dogs and 16 were pure-bred dogs. Inclusion in the study was based on a positive result for circulating *D. immitis* antigens (Urano test *Dirofilaria*<sup>®</sup>, Urano Vet SL, Barcelona, Spain). Dogs were further evaluated for the presence or absence of microfilariae using a modified Knott test. Thoracic radiography and echocardiography exams were carried out in all dogs at the beginning and at the end of the study.

Dogs underwent echocardiographic exam by using an ultrasound machine with spectral and color Doppler and multifrequency probes (5.5–10 MHz) (Logic P5, General Electric, New York, USA). The dogs were placed in right lateral recumbence with the transducer placed in the third intercostal space. Dogs were conscious and under electrocardiographic monitoring during the whole test. For each measurement, six continuous cardiac cycles were recorded. All the echocardiographic records were carried out by the same researcher.

Echocardiographic findings were evaluated to estimate the worm burden (Vencko et al., 2003), and a score from 1 to 4 was assigned from low to high worm burden as follows: (1) No worms visualized, (2) few worm echoes in the distal part of the right pulmonary artery, (3) worm echoes occupying the right pulmonary artery and extending to the main pulmonary artery, (4) worm echoes occupying the whole right pulmonary artery and the main pulmonary artery to the level of pulmonary valve.

The following parameters were determined by means of spectral Doppler: pulmonary flow acceleration time (AT), pulmonary flow ejection time (ET), AT/ET ratio, maximum velocity of the blood flow through the pulmonary artery (PAVmax) and pulmonary deceleration time (DT). Presence or absence of tricuspid regurgitation (TR) and pulmonary regurgitation (PR) as well as gradient between chambers, were also assessed. By standard two-dimensional mode, the following was determined: main pulmonary artery/aorta ratio (PA/Ao ratio), left atrial (LAV) and right atrial (RAV) volumes, left atrial (LAA) and right atrial (RAA) areas. By M-mode, the measured parameters were: fractional shortening (FS), ejection fraction (EF), right ventricular internal diameter in telediastole (RVIDD) and left ventricular internal diameter in telediastole (LVIDD), RVIDD/LVIDD ratio, right ventricle wall thickness (RVWT), left ventricle posterior wall thickness (LVPWT), RVWT/LVPWT ratio, and tricuspid annular

plane systolic excursion (TAPSE). The RPAD Index was determined as described by Vencko et al. (2014b).

The dogs received adulticide treatment following the American Heartworm Society recommended management protocol (American Heartworm Society, 2014). Briefly, on day 0 the dog is diagnosed and verified as heartworm positive, start with monthly heartworm preventative based on ivermectin (6 µg/kg) (Cardotek-30 Plus, Merial Laboratorios S.A., Barcelona, Spain) and the administration of doxycycline (Ronaxan, Merial Laboratorios S.A., Barcelona, Spain) (10 mg/kg BID) for 4 weeks. On day 60 the dog is treated with the first intramuscular injection of melarsomine (2.5 mg/kg) (Immiticide, Merial Laboratorios S.A., Barcelona, Spain), followed on day 90 by a second injection, and a third injection on day 91. On day 120 the dog is tested for presence of microfilariae and discharged. Finally, the day 271, 6 months after completion, an antigen test is done to confirm the adulticide efficacy.

Moderate exercise restriction was recommended since the day 0 until day 60 and significant since day 60 until at least one month after the last melarsomine injection. Echocardiographic measurements were assessed on day 0 (day of the diagnosis) and day 120 (day of discharge). Measurements were assessed by the same technician who on day 120 was blinded about the results from day 0.

The data were analyzed using the SPSS Base 19.0 software for Windows. A Kolmogorov-Smirnov test was performed to verify the normal distribution of the data. Continuous variables were expressed as median ± standard deviation. Qualitative variables are expressed as percentage. The non-parametric test of Wilcoxon was used to determine the differences before and after treatment. The Chi square test or Fisher's exact test was used to assess the association between categorical variables. In all cases, a p value < 0.05 was determined as significant.

All the owners gave their consent to participate in this study. The study was approved by the ethical committee of the Veterinary Medicine Service of the University of Las Palmas de Gran Canaria and was carried out in accordance with the current European legislation on animal protection.

## 3. Results

Based on the modified Knott test results on day 0, 17 dogs (50%) showed microfilaremia and 17 (50%) were amicrofilaremic. On day 120, only one dog showed microfilaremia.

According to the echocardiographic findings, at the beginning of the study 25 dogs (74%) were considered as having a low burden of heartworms (scores 1 or 2) while 9 (26%) were considered to have a high burden (scores 3 or 4). On day 120, all dogs were classified as score 1.

Absence or presence of pH, as well as the severity, was based on the determination of the RPAD Index. According to Vencko et al. (2014b), pH was present in 68% of the dogs (n = 23): 2 dogs presented severe pH (RPAD Index ≤ 22%), 13 dogs presented moderate pH (RPAD Index 23–27%) and 8 presented mild pH (RPAD Index 28–35%). Normal pulmonary pressure was present in 32% (n = 11) of the studied dogs (RPAD Index ≥ 36%). On day 120, 23 dogs showed pH (3 dogs presented severe pH, 5 dogs presented moderate pH and 15 presented mild pH), while 11 dogs showed normal pulmonary pressure.

No significant differences were observed between the RPAD Index on day 0 and RPAD Index on day 120, in both with high and low parasite burden groups of dogs (Table 1). When the evolution of the RPAD Index was observed individually from day 0 to day 120, 6 dogs evolved from normotense to hypertense and 6 dogs evolved from hypertense to normotense; 17 dogs with pH remained hypertense on day 120, and 5 dogs which were normotense on day 0 remained normotense on day 120.



**Table 1**

Right Pulmonary Artery Distensibility (RPAD) Index on day 0 (beginning of the study, day of diagnosis) and day 120 (one month after the last adulticide dose) of the studied dogs (n = 34) according to parasite burden on day 0 based on echocardiographic findings (Venco et al., 2003). Dogs were considered as having a low burden of heartworms (n = 25) if no worms were visualized or few worm echoes were observed in the distal part of the right pulmonary artery, and considered to have a high burden (n = 9) if worm echoes were occupying the right pulmonary artery and extending to the main pulmonary artery or occupying the whole right pulmonary artery and the main pulmonary artery to the level of pulmonary valve.

| RPAD Index (%) | High Parasite Burden (n=9) | Low Parasite Burden (n=25) |
|----------------|----------------------------|----------------------------|
| Day 0          | 31.06 ± 5.50               | 32.36 ± 9.01               |
| Day 120        | 31.11 ± 7.09               | 35.33 ± 11.23              |

**Table 2**

Echocardiographic parameters measured in the studied dogs (n = 34).

| Echocardiographic parameter | Day 0 (n = 34) | Day 120 (n = 34) |
|-----------------------------|----------------|------------------|
| AT (ms)                     | 0.08 ± 0.02    | 0.07 ± 0.02      |
| ET (ms) <sup>†</sup>        | 0.21 ± 0.04    | 0.19 ± 0.02      |
| AT/ET                       | 0.37 ± 0.09    | 0.39 ± 0.10      |
| PAVmax (m/s)                | 0.84 ± 0.21    | 0.87 ± 0.20      |
| DT (ms) <sup>†</sup>        | 0.13 ± 0.02    | 0.11 ± 0.02      |
| PA/Ao                       | 1.02 ± 0.14    | 0.99 ± 0.11      |
| LAV (cm)                    | 6.64 ± 4.98    | 8.13 ± 6.03      |
| RAV (cm)                    | 5.44 ± 3.75    | 5.73 ± 3.96      |
| LAA (cm <sup>2</sup> )      | 4.44 ± 1.99    | 5.02 ± 2.54      |
| RAA (cm <sup>2</sup> )      | 3.85 ± 1.84    | 3.98 ± 1.82      |
| FS (%)                      | 41.28 ± 10.02  | 37.83 ± 12.10    |
| EF (%)                      | 71.43 ± 12.13  | 67.27 ± 15.25    |
| RVIDD (cm)                  | 1.02 ± 0.45    | 0.92 ± 0.55      |
| LVIDD (cm) <sup>†</sup>     | 2.98 ± 0.69    | 3.17 ± 0.68      |
| RVIDD/LVIDD                 | 0.34 ± 0.16    | 0.29 ± 0.19      |
| RVWT (cm)                   | 0.54 ± 0.12    | 0.55 ± 0.16      |
| LVPWT (cm)                  | 0.83 ± 0.25    | 0.76 ± 0.19      |
| RVWT/LVPWT                  | 0.69 ± 0.18    | 0.74 ± 0.20      |
| TAPSE (cm)                  | 1.39 ± 0.35    | 1.38 ± 0.32      |
| RPAD Index (%)              | 32.01 ± 8.17   | 34.22 ± 10.37    |

AT: pulmonary artery flow acceleration time; ET: pulmonary artery flow ejection time; PAVmax: maximum velocity of the blood flow through pulmonary artery; DT: pulmonary deceleration time; PA/Ao: main pulmonary artery/aorta ratio; LAV, RAV: left atrial and right atrial volumes; LAA, RAA: left atrial and right atrial areas; FS: fractional shortening; EF: ejection fraction; RVIDD, LVIDD: right ventricular and left ventricular internal diameters in telediastole; RVWT: right ventricular wall thickness; LVPWT: left ventricular posterior wall thickness; TAPSE: tricuspid annular plane systolic excursion; RPAD Index: Right Pulmonary Artery Distensibility Index.

<sup>†</sup> Statistically significant differences (p < 0.05) between day 0 and day 120.

TR and/or PR was present in 7 dogs on day 0 and 7 dogs on day 120. TR was present in 3 dogs at the beginning of the treatment with no signs of systolic pulmonary hypertension (mean velocity flow: 1.88 ± 0.69 m/s) and in 6 dogs at the end of the study (mean velocity flow: 1.56 ± 1.45 m/s). PR was present in 6 dogs at the beginning of the treatment with no signs of diastolic pulmonary hypertension (mean velocity flow: 1.22 ± 0.43 m/s), while was present in 3 dogs at the end of the study (mean: 1.81 ± 1.11 m/s).

When the other echocardiographic measurements were evaluated, only significant differences were found in DT, ET and LVIDD when measurements from day 0 and day 120 were compared (p < 0.05) (Table 2).

#### 4. Discussion

Heartworm disease is characterized by arterial damage, produced by the development of proliferative endarteritis. This is characterized by the cell proliferation and migration of the vascular endothelium and smooth muscle, and the degradation of the extracellular matrix. This process results in the formation of intravascular microvilli, among other mechanisms, causing intimal thickening and narrowing of the arterial lumen (Adcock, 1961; Atwell et al., 1988; González-Miguel et al., 2012). It is caused by

the presence of the adult worms in the pulmonary arteries and the lesions begin immediately upon arrival of the parasites and worsen with the chronicity of the disease (Atwell et al., 1985; Bowman and Atkins, 2009). Endarteritis leads to a decrease in pulmonary vascular compliance and an increase in pulmonary vascular resistance that, if severe, will lead to pH. When severe and chronic, pH may be complicated by right congestive heart failure (McCall et al., 2008; Bowman and Atkins, 2009).

pH is one of the most damaging complications in heartworm and is probably present in most dogs with radiographically apparent heartworm disease (Kittleson, 1998); being a frequent and severe phenomenon in heartworm, its objective determination is important. To determine the presence of pH, transthoracic Doppler echocardiography has been described as the method of choice in veterinary patients (Kelliher and Stepien, 2010). However, the diagnosis of pH was often based on indirect and subjective parameters, specifically when tricuspid regurgitation and/or pulmonary insufficiency are not present, which only help to partially quantify the disease severity. This limitation does not apply to the RPAD Index, which may be useful and predictive of pH in dogs also when tricuspid regurgitation is absent or difficult to obtain (Venco et al., 2014b; Visser et al., 2016).

Furthermore, during the adulticide treatment, the death of the worms causes thromboembolism and tends to worsen the vascular damage and presence of pH, right heart failure, or pulmonary infarction (McCall et al., 2008; Bowman and Atkins, 2009). In sight of the importance of this, there is a lack of studies evaluating the response of the pulmonary vasculature and changes in the vascular damage and pH once the parasites disappear from the system of the host.

The results from this study did not show any improvement neither worsening in the development of pH after the elimination of the parasites, independently of the parasite burden, since the differences in the RPAD Index from day 0 and day 120 were not statistically significant. In dogs with high parasite burden, previous studies showed that a significant percentage are still showing signs of pulmonary thromboembolism one month after the last injection of adulticide (Carretón et al., 2013; Carretón et al., 2014), when the second echocardiographic evaluation was carried out in this study. Thromboembolism aggravates pH, but based on the results from this study, it seems that the death of the worms did not damage significantly the vasculature of the treated dogs. This basically consists on the previous elimination of *Wolbachia* and reduction of microfilariae, followed by a stepped death of the worms, which reduces significantly the importance of the thromboembolic processes and therefore the potential exacerbation of pH in these dogs (Kramer et al., 2011). On the other hand, a study demonstrated that the biomarker of pulmonary thromboembolism D-dimer was undetectable in all dogs with low burden from the third week after the first injection until the end of the treatment, suggesting that most of the worms die after the first adulticidal injection (Carretón et al., 2013); however, neither is present any significant improvement in the RPAD Index on day 120 in dogs with low parasite burden.

These results raise the question whether more time is necessary once the intravascular parasites have been eliminated to show a significant improvement of the vasculature or if there is not any significant recovery after the adulticide treatment in dogs with chronic vascular damage. It should be considered the duration of the infection; this cannot be estimated in naturally infected dogs, but chronic infections have a significant impact in both the pathological and clinical alterations, which could influence in the capacity of recovery of the vascular system of the dog once the parasites have been eliminated. There are evidences that after the adulticidal therapy, intimal proliferation is partially reversible (Rawlings et al., 1981). Also, the C-reactive protein, an acute phase protein which probably has a role in the chronic process of remod-



eling of the arterial walls and can be used as a marker of endothelial arteritis and pulmonary hypertension in heartworm (Venco et al., 2014a), was decreased one month after the last dose of adulticide of *D. immitis*, but did not return to normal values (Méndez et al., 2015). Probably, more time is needed before appreciating some positive changes in the vasculature. It is known that the parasite antigens require a longer period of clearance from the bloodstream, and therefore circulating antigens could be still causing vascular injury (Bowman and Atkins, 2009). To investigate that, further studies should be carried out evaluating the RPAD Index in dogs several months after the treatment is finished.

On the other hand, this study showed significant differences in DT and ET. Both values decreased and this fact could be related with a more normalized flow through pulmonary artery after treatment. There were a significant different in LVIDD with a rise in this value after treatment. This fact could be related with a more normalized preload in left ventricular chamber after disappearance of worms from pulmonary arteries.

This study showed the utility and practical use of the RPAD Index in the measurement and evaluation of the hypertensive status of the dog with heartworms. Being a frequent and severe phenomenon in this disease, its objective determination is important and the possibility to establish and objective approach for the veterinary clinician to determine this status, could be beneficial for the infected dogs. The knowledge of the response and possible changes of the pulmonary vasculature after the adulticide treatment by using the RPAD Index and other echocardiographic measurements may be useful to provide an objective prognosis to the owner of the dog and also to determine if further treatment is necessary after the parasites have been eliminated.

The current results seem to indicate that there is not significant aggravation of the pulmonary damage during the death of the worms by using the adulticide protocol recommended by the American Heartworm Society, and that more time and further studies are necessary to establish the benefits of the elimination of the parasites and *Wolbachia* over the vasculature to determine the positive influence throughout the time.

#### Acknowledgements

This research was partially supported by the Mexican National Council on Science and Technology (CONACYT) – Grant 314686.

#### References

- Adcock, J.L., 1961. Pulmonary arterial lesions in canine dirofilariasis. *Am. J. Vet. Res.* 22, 655–662.
- American Heartworm Society, 2014. Current Canine Guidelines for the Prevention Diagnosis and Management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) Infection in Dogs. Available at: <http://www.heartwormsociety.org> (accessed 20.10.16).
- Atwell, R.B., Buoro, I.B., Sutton, R.H., 1985. Experimental production of lesions in canine pulmonary arteries similar to those produced by *Dirofilaria immitis* infection. *Vet. Rec.* 116, 539–541.
- Atwell, R.B., Sutton, R.H., Moodie, E.W., 1988. Pulmonary changes associated with dead filariae (*Dirofilaria immitis*) and concurrent antigenic exposure in dogs. *J. Comp. Pathol.* 98, 349–361.
- Bowman, D.D., Atkins, C.E., 2009. Heartworm biology, treatment, and control. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 39, 1127–1158 (vii).
- Carretón, E., Morchón, R., González-Miguel, J., Simón, F., Juste, M.C., Montoya-Alonso, J.A., 2013. Variation of D-dimer values as assessment of pulmonary thromboembolism during adulticide treatment of heartworm disease in dogs. *Vet. Parasitol.* 195, 106–111.
- Carretón, E., Morchón, R., Simón, F., Juste, M.C., González-Miguel, J., Montoya-Alonso, J.A., 2014. Evaluation of cardiopulmonary biomarkers during classic adulticide treatment versus the American Heartworm Society recommended treatment protocol in dogs infected by *Dirofilaria immitis*. *Vet. Parasitol.* 206, 55–59.
- Dillon, R.A., Brawner, W.R., Hanrahan, L., 1995. Influence of number of parasites and exercise on the severity of heartworm disease in dogs. In: Sol, M.D., Knight, D.H. (Eds.), *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*. American Heartworm Society, Vavavav, IL, p. 113.
- González-Miguel, J., Morchón, R., Mellado, I., Carretón, E., Montoya-Alonso, J.A., Simón, F., 2012. Excretory/secretory antigens from *Dirofilaria immitis* adult worms interact with the host fibrinolytic system involving the vascular endothelium. *Mol. Biochem. Parasitol.* 181, 134–140.
- González-Miguel, J., Morchón, R., Carretón, E., Montoya-Alonso, J.A., Simón, F., 2015. Can the activation of plasminogen/plasmin system of the host by metabolic products of *Dirofilaria immitis* participate in heartworm disease endarteritis? *Parasit. Vectors* 8, 194.
- Kelliham, H.B., Stepien, R.L., 2010. Pulmonary hypertension in dogs: diagnosis and therapy. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 40, 623–641.
- Kittleson, M.D., 1998. Heartworm infection and disease (Dirofilariasis). In: Kittleson, M.D., Kienle, R.D. (Eds.), *Small Animal Cardiovascular Medicine Textbook*. Mosby, St. Louis, pp. 370–401.
- Kramer, L., Grandi, G., Passeri, B., Gianelli, P., Genchi, M., Dzimiński, M.T., Supakorndej, P., Mansour, A.M., Supakorndej, N., McCall, S.D., McCall, J.W., 2011. Evaluation of lung pathology in *Dirofilaria immitis*-experimentally infected dogs treated with doxycycline or a combination of doxycycline and ivermectin before administration of melarsomine dihydrochloride. *Vet. Parasitol.* 176, 357–360.
- Méndez, J.C., Carretón, E., Martínez-Subiela, S., Tvarijonavičiute, A., Cerón, J.J., Montoya-Alonso, J.A., 2015. Acute phase protein response in heartworm-infected dogs after adulticide treatment. *Vet. Parasitol.* 209, 197–201.
- McCall, J.W., Genchi, C., Kramer, L.H., Guerrero, J., Venco, L., 2008. Heartworm disease in animals and humans. *Adv. Parasitol.* 66, 193–285.
- Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., Corbera, J.A., Juste, M.C., Mellado, I., Morchón, R., Simón, F., 2011. Current prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs, cats and humans from the island of Gran Canaria. *Spain Vet. Parasitol.* 176, 291–294.
- Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., Morchón, R., Silveira-Viera, L., Falcón, Y., Simón, F., 2016. The impact of the climate on the epidemiology of *Dirofilaria immitis* in the pet population of the Canary Islands. *Vet. Parasitol.* 216, 66–71.
- Rawlings, C.A., Keith, J.C., Schaub, R.G., 1981. Development and resolution of pulmonary disease in heartworm infection: illustrated review. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 17, 711–720.
- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., Montoya-Alonso, J.A., 2012. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 507–544.
- Uchide, T., Saida, K., 2005. Elevated endothelin-1 expression in dogs with heartworm disease. *J. Vet. Med. Sci.* 67, 1155–1161.
- Venco, L., Genchi, C., Vigevani Colson, P., Kramer, L., 2003. Relative utility of echocardiography, radiography, serologic testing and microfilariae counts to predict adult worm burden in dogs naturally infected with heartworms. In: Seward, R.L., Knight, D.H. (Eds.), *Recent Advances in Heartworm Disease, Symposium '01*. American Heartworm Society, Batavia, IL, pp. 111–124.
- Venco, L., Bertazzolo, W., Giordano, G., Paltrinieri, S., 2014a. Evaluation of C-reactive protein as a clinical biomarker in naturally heartworm-infected dogs: a field study. *Vet. Parasitol.* 206, 48–54.
- Venco, L., Mihaylova, L., Boon, J.A., 2014b. Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index): a field study of an echocardiographic method to detect early development of pulmonary hypertension and its severity even in the absence of regurgitant jets for Doppler evaluation in heartworm-infected dogs. *Vet. Parasitol.* 206, 60–66.
- Visser, L.C., Im, M.K., Johnson, L.R., Stern, J.A., 2016. Diagnostic value of right pulmonary artery distensibility index in dogs with pulmonary hypertension: comparison with doppler echocardiographic estimates of pulmonary arterial pressure. *J. Vet. Intern. Med.* 30, 543–552.





## 5 CONCLUSIONES

---





Lucian Freud, *Retrato doble* (1985-1986), colección particular

## CONCLUSIONES

1. En los perros con dirofilariosis cardiopulmonar ninguna de las mediciones ecocardiográficas tradicionales estudiadas, en modo bidimensional, modo-M o Doppler, resultaron útiles para estimar de manera objetiva la presencia y gravedad de hipertensión pulmonar.
2. El empleo del índice DAPD permite evaluar y monitorizar de manera objetiva y sencilla la presencia y gravedad de hipertensión pulmonar en los perros infectados de *D. immitis*, siendo una herramienta diagnóstica válida en la detección precoz de hipertensión pulmonar en perros con dirofilariosis cardiopulmonar asintomáticos.
3. No existe una modificación significativa del estado de tensión pulmonar en perros con dirofilariosis cardiopulmonar tras el tratamiento adulticida siguiendo las pautas recomendadas por la American Heartworm Society.
4. La presencia de hipertensión pulmonar en perros con *D. immitis* parece no depender exclusivamente de la carga parasitaria del paciente.
5. Es necesario que transcurra un periodo de tiempo mayor de 30 días, desde la finalización del tratamiento adulticida y la eliminación de los parásitos de *Dirofilaria immitis*, para poder apreciar cambios positivos en las alteraciones vasculares y de tensión pulmonar en los perros infestados.



The background of the page is an abstract composition of thin, overlapping lines in various shades of blue and black. Some lines are straight, while others are curved or spiral-like. There are also small black dots scattered throughout the design, particularly in the lower right quadrant. The overall effect is that of a complex, organic network or a stylized botanical structure.

## 6 RESUMEN/SUMMARY

---





## RESUMEN

La dirofilariosis cardiopulmonar es una enfermedad parasitaria de carácter grave producida por el nematodo *Dirofilaria immitis*. Esta enfermedad es cosmopolita y se encuentra distribuida ampliamente en zonas tropicales y subtropicales. La patogénesis de la dirofilariosis se atribuye a la presencia de los parásitos que, en su forma adulta, se localizan principalmente en las arterias pulmonares y en el ventrículo derecho del hospedador, causando endarteritis pulmonar proliferativa e hipertensión pulmonar que, si no es tratada, de forma crónica produce insuficiencia cardíaca congestiva. En las fases tempranas no se observan cambios ecocardiográficos evidentes; sin embargo, el desarrollo de endarteritis, que posteriormente provoca hipertensión pulmonar, comienza desde el inicio de la infección. Por ello, el desarrollo de técnicas diagnósticas objetivas y precoces mediante ecocardiografía se hace necesario. El objetivo de esta tesis doctoral fue evaluar la utilidad de una serie de mediciones ecocardiográficas en modo bidimensional, modo-M y Doppler empleadas comúnmente para estimar de manera indirecta la presencia de hipertensión pulmonar, así como el reciente índice de distensibilidad de arteria pulmonar derecha (DAPD), en la evaluación clínica del perro con dirofilariosis cardiopulmonar y en el diagnóstico de hipertensión pulmonar antes y tras el tratamiento adulticida. Para ello, se estudiaron 93 perros infectados por *D. immitis*, y se valoró la utilidad de las mediciones ecocardiográficas e índice DAPD, en función de la carga parasitaria, sexo, origen (albergue/ propietario), o presencia/ausencia de microfilaremia y de síntomas. Se observó que ninguna de las mediciones ecocardiográficas estudiadas, excepto el índice DAPD, resultaron útiles para estimar la presencia y gravedad de la hipertensión pulmonar en perros con dirofilariosis cardiopulmonar. Además, tampoco resultaron válidos para cuantificar los aspectos clínicos evaluados, salvo el índice DAPD que presentaba diferencias significativas entre animales sintomáticos y asintomáticos. Posteriormente, se evaluaron ecocardiográficamente 34 perros antes y después del tratamiento adulticida para observar la evolución del daño vascular; se observó que no existe un empeoramiento significativo del daño vascular ni desarrollo de hipertensión pulmonar en perros con dirofilariosis cardiopulmonar tras la muerte de los parásitos adultos pero tampoco existe una mejora significativa del estado hipertensivo tras finalizar el tratamiento adulticida; para esclarecer si tal mejora es viable, son necesarios realizar más estudios seriados en el tiempo para establecer los beneficios de la eliminación de los parásitos y la bacteria *Wolbachia*. Los resultados validan el empleo del índice DAPD como un índice objetivo para evaluar



## RESUMEN

y monitorizar a los perros infectados por *D. immitis*, el cual presenta un importante valor diagnóstico en la detección precoz de hipertensión pulmonar en perros asintomáticos, lo que podría permitir tomar medidas terapéuticas adecuadas dirigidas a impedir el progreso del daño vascular en estos animales. Los resultados alientan el uso del índice DAPD de manera estandarizada para determinar la presencia o ausencia de hipertensión pulmonar, así como su gravedad, en el perro con dirofilariosis cardiopulmonar.

Palabras clave: dirofilariosis, *Dirofilaria immitis*, ecocardiografía, hipertensión pulmonar, arteria pulmonar, endarteritis pulmonar proliferativa

## SUMMARY

Cardiopulmonary dirofilariosis is a severe parasitic disease caused by the nematode *Dirofilaria immitis*. It is a cosmopolitan disease, widely found in tropical and subtropical areas. The pathogenesis of this disease is caused by the presence of the adult parasites in the pulmonary arteries and right ventricle of the host, causing pulmonary proliferative endarteritis and pulmonary hypertension which, if not treated, chronically leads to right-sided congestive heart failure. In the early stages, no apparent echocardiographic changes are observed; however, the generation of endarteritis, which afterwards will produce pulmonary hypertension, starts from the beginning of the infection. Therefore, the development of objective and early diagnostic techniques by echocardiography is necessary. The aim of the present thesis was to evaluate the utility of echocardiographic measurements by bidimensional, M-mode and Doppler echocardiography, commonly used to indirectly estimate the presence of pulmonary hypertension, as well as the recent Right Pulmonary Artery Distensibility (RPAD) Index, in the clinical evaluation and diagnosis of pulmonary hypertension in the dog with cardiopulmonary dirofilariosis before and after the adulticide treatment. For this, 93 dogs infected by *D. immitis* were evaluated to assess the utility of the echocardiographic measurements and RPAD Index in terms of parasite burden, sex, origin (client-owned/ shelter), or presence/absence of microfilariaemia and symptoms. It was observed that any of the studied echocardiographic measurements, except the RPAD Index, were useful to estimate the presence and severity of the pulmonary hypertension in dogs with cardiopulmonary dirofilariosis. Furthermore, neither were useful to quantify any of the evaluated clinical aspects, except the RPAD Index which showed significant differences between symptomatic and asymptomatic animals. Afterwards, 34 dogs were evaluated echocardiographically before and after the adulticide treatment to observe the evolution of the vascular damage; it was observed that there was not a significant worsening of the vascular damage and development of pulmonary hypertension in dogs with heartworm after the death of the adult parasites, but neither was observed a significant improvement of the hypertensive status after the adulticide treatment; to clarify whether or not an improvement is viable, more studies through the time are necessary to establish the benefits of the elimination of the parasites and the bacteria *Wolbachia*. The results validate the use of the RPAD Index as an objective echocardiographic index to evaluate and monitor the dogs infected by *D. immitis*, presenting an important diagnostic value

## SUMMARY

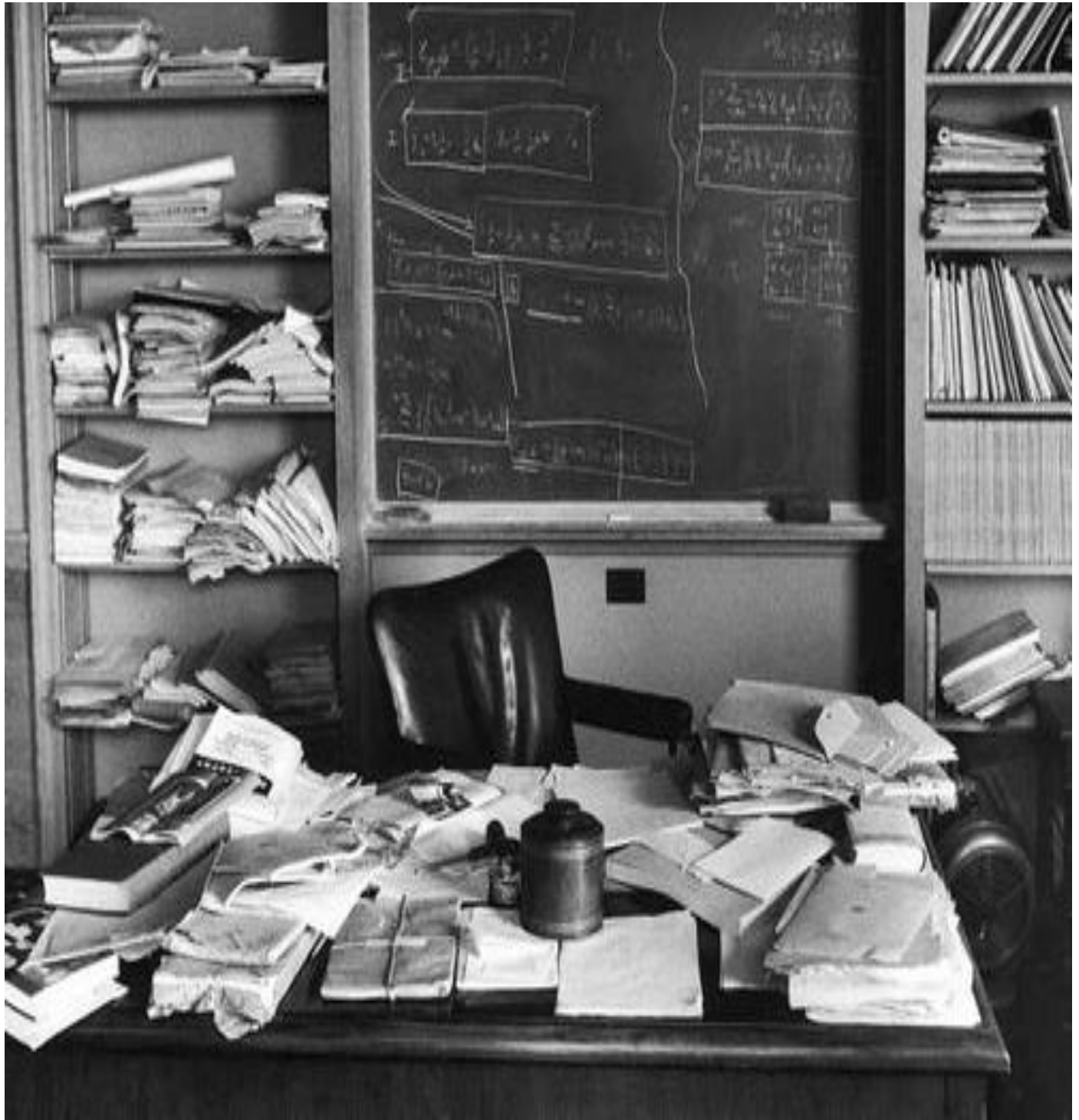
in the early detection of pulmonary hypertension in asymptomatic dogs, which could allow appropriate therapeutic measures aimed to minimize the evolution of the vascular damage in these animals. The results encourage the use of the RPAD Index as a standardized method to assess the presence or absence of pulmonary hypertension, as well as the severity, in heartworm-infected dogs.

Keywords: heartworm, *Dirofilaria immitis*, echocardiography, pulmonary hypertension, pulmonary artery, pulmonary proliferative endarteritis

The background of the page is a complex, abstract composition of thin, overlapping lines. On the left side, there are several thick, dark black lines that form a dense, tangled web. These lines curve and loop, some ending in small circles or dots. Interspersed among these are numerous thinner, light blue lines that create a sense of movement and depth. The overall effect is that of a dynamic, organic structure, possibly representing a network or a biological form. The right side of the page is mostly white, with a thin vertical line separating it from the rest of the design.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

---





## BIBLIOGRAFÍA

- Abramowsky, C.R., Powers, K.G., Aikawa, M., Swinehart, G., 1981. *Dirofilaria immitis*. 5. Immunopathology of filarial nephropathy in dogs. *Am J Pathol.* 104, 1-12.
- Acevedo, R.A., Theis, J.H., Kraus, J.F., Longhurst, W.M., 1981. Combination of filtration and histochemical stain for detection and differentiation of *dirofilaria-immitis* and *dipetalonema-reconditum* in the dog. *Am J Vet Res.* 42, 537-540.
- Ackerman, N., 1987. Radiographic aspects of heartworm disease. *Semin Vet Med Surg (Small Anim).* 2, 15-27.
- Álvarez, I., Uribe, A., Duarte, S., 2012. Biomarcadores de la falla cardiaca en pequeños animales. *Rev Med Vet.* 24, 59-70.
- American Heartworm Society, 2014. Current canine guidelines for the prevention, diagnosis and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs (2014). Available at: <http://www.heartwormsociety.org> Accessed 20 July 2016.
- Anderson, R.C., 2000. *Nematode Parasites of Vertebrates. Their Transmission and Development.*, 2 Edition. 2000 Cambridge University Press, Wallingford, Oxon UK.
- Arcasoy, S.M., Christie, J.D., Ferrari, V.A., Sutton, M.S., Zisman, D.A., Blumenthal, N.P., Pochettino, A., Kotloff, R.M., 2003. Echocardiographic assessment of pulmonary hypertension in patients with advanced lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 167, 735-740.
- Aresu, L., Valenza, F., Ferroglio, E., Pregel, P., Uslenghi, F., Tarducci, A., Zanatta, R., 2007. Membranoproliferative Glomerulonephritis Type III in a Simultaneous Infection of *Leishmania Infantum* and *Dirofilaria Immitis* in a Dog. *J Vet Diagn Invest.* 19, 569-572.
- Atkins, C., Miller, M.W., 2003. Is there a better way to administer heartworm adulticidal therapy? *Veterinary medicine.* 98, 310-317.
- Atkins, C.E., 2003. Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. *J Am Vet Med Assoc.* 222, 1221-1223.
- Atkins, C.E., 2009. Heartworm Disease, in Ettinger SJ, Feldamn EC. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 7ª Edición. Ed. Elsevier Health Sciences, 2009. PP 1353-72. Vol 2, Seventh edition Edition. Elsevier Health Sciences.
- Atkinson, K.J., Fine, D.M., Thombs, L.A., Gorelick, J.J., Durham, H.E., 2009. Evaluation of Pimobendan and N-Terminal Probrain Natriuretic Peptide in the Treatment of Pulmonary Hypertension Secondary to Degenerative Mitral Valve Disease in Dogs. *J Vet Intern Med.* 23, 1190-1196.



- Atwell, R.B., Farmer, T.S., 1982. Clinical pathology of the caval syndrome in canine dirofilariasis in northern australia. *J. Small Anim. Pract.* 23, 675-685.
- Atwell, R.B., Sutton, R.H., Moodie, E.W., 1988. Pulmonary changes associated with dead filariae (*Dirofilaria immitis*) and concurrent antigenic exposure in dogs. *J Comp Pathol.* 98, 349-361.
- Bacal, F., de Freitas, A.F., Jr., Moreira, L.F., Fiorelli, A.I., Mangini, S., Abuhab, A., de Lima Oliveira, J., Jr., Santos, R.H., Stolf, N.A., Bocchi, E.A., 2010. Validation of a cutoff value on echo Doppler analysis to replace right heart catheterization during pulmonary hypertension evaluation in heart transplant candidates. *Transplant Proc.* 42, 535-538.
- Bach, J.F., Rozanski, E.A., MacGregor, J., Betkowski, J.M., Rush, J.E., 2006. Retrospective evaluation of sildenafil citrate as a therapy for pulmonary hypertension in dogs. *J Vet Intern Med.* 20, 1132-1135.
- Bahr, R.J., Thrall, DE. 2009, Corazón y vasos pulmonares. *Tratado de Diagnóstico Radiológico Veterinario*, 5th. PP 584-506 (Inter-Medica. Buenos Aires).
- Barnard, D., Alpert, J.S., 1987. Right ventricular function in health and disease. *Curr Probl Cardiol.* 12, 417-449.
- Bazzocchi, C., Mortarino, M., Grandi, G., Kramer, L.H., Genchi, C., Bandi, C., Genchi, M., Sacchi, L., McCall, J.W., 2008a. Combined ivermectin and doxycycline treatment has microfilaricidal and adulticidal activity against *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs. *Int J Parasitol.* 38, 1401-1410.
- Bazzocchi, C., Mortarino, M., Grandi, G., Kramer, L.H., Genchi, C., Bandi, C., Genchi, M., Sacchi, L., McCall, J.W., 2008b. Combined ivermectin and doxycycline treatment has microfilaricidal and adulticidal activity against *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs. *Int. J. Parasitol* 38, 1401-1410.
- Benza, R.L., Gomberg-Maitland, M., Demarco, T., Frost, A.E., Torbicki, A., Langleben, D., Pulido, T., Correa-Jaque, P., Passineau, M.J., Wiener, H.W., Tamari, M., Hirota, T., Kubo, M., Tiwari, H.K., 2015. Endothelin-1 Pathway Polymorphisms and Outcomes in Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 192, 1345-1354.
- Blass, C.E., Holmes, R.A., Neer, T.M., 1989. Recurring tetraparesis attributable to a heartworm in the epidural space of a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 194, 787-788.
- Boon, J., 2012. *Ecocardiografía Veterinaria, Segunda Edición.* Edit. Multimedia Ediciones Veterinarias, Barcelona España.
- Bowman, D., Little, S.E., Lorentzen, L., Shields, J., Sullivan, M.P., Carlin, E.P., 2009. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: Results of a national clinic-based serologic survey. *Vet Parasitol.* 160, 138-148.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bowman, D.D., Atkins, C.E., 2009. Heartworm biology, treatment, and control. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 39, 1127-1158, vii.
- Brener, B., Millar, P.R., de Mattos, D., Uchoa, F., Bastos, B., Lyrio, I.R., Aragon, P.L., Sudre, A.P., 2012. Ectopic dirofilariosis in two dogs from rio de janeiro state, brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 54, 175-177.
- Brinkmann, U.K., Krämer, P., Presthus, G.T., Sawadogo, B., 1976. Transmission in utero of microfilariae of *Onchocerca volvulus*. *Bull World Health Organ.* 54, 708-709.
- Brito, V., Alcaraz, A., Augustovski, F., Pichon-Riviere, A., Garcia-Marti, S., Bardach, A., Ciapponi, A., Lopez, A., Comande, D., Grupo de Evaluacion de Tecnologias, S., 2015. High sensitivity C protein as an independent risk factor in people with and without history of cardiovascular disease. *Arch Cardiol Mex.* 85, 124-135.
- Buchanan, J.W., Bucheler, J., 1995. Vertebral scale system to measure canine heart size in radiographs. *J Am Vet Med Assoc.* 206, 194-199.
- Calvert, C.A., Losonsky, J.M., 1985. Pneumonitis associated with occult heartworm disease in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 186, 1097-1098.
- Calvert, C.A., Rawlings, C.A., 1985. Pulmonary manifestations of heartworm disease. *North Am Small Anim Pract.* 15, 991-1009.
- Campbell, F.E., 2007. Cardiac effects of pulmonary disease. *North Am Small Anim Pract.* 37, 949-962, vii.
- Cancrini, G., Kramer, L., 2001. Insect vectors of *Dirofilaria* spp. Heartworm infection in humans and animals. Ediciones Universidad de Salamanca, Salamanca, España. 78, pp 63-76
- Cancrini, G., Magi, M., Gabrielli, S., Arispici, M., Tolari, F., Dell'Omodarme, M., Prati, M.C., 2006. Natural vectors of *Dirofilariasis* in rural and urban areas of the Tuscan Region, central Italy. *J. Med. Entomol.* 43, 574-579.
- Capelli, G., Frangipane di Regalbano, A., Simonato, G., Cassini, R., Cazzin, S., Cancrini, G., Otranto, D., Pietrobelli, M., 2013. Risk of canine and human exposure to *Dirofilaria immitis* infected mosquitoes in endemic areas of Italy. *Parasit Vectors.* 6, 60.
- Carreton, E., Morchon, R., Simon, F., Juste, M.C., Gonzalez-Miguel, J., Montoya-Alonso, J.A., 2014a. Evaluation of cardiopulmonary biomarkers during classic adulticide treatment versus the American Heartworm Society recommended treatment protocol in dogs infected by *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitol.* 206, 55-59.
- Carreton, E., Morchon, R., Simon, F., Juste, M.C., Mendez, J.C., Montoya-Alonso, J.A., 2014b. Cardiopulmonary and inflammatory biomarkers in the assessment of the severity of canine dirofilariosis. *Vet parasitol.* 206, 43-47.

## BIBLIOGRAFÍA

- Casiraghi, M., Bazzocchi, C., Mortarino, M., Ottina, E., Genchi, C., 2006. A simple molecular method for discriminating common filarial nematodes of dogs (*Canis familiaris*). *Vet Parasitol.* 141, 368-372.
- Confer, A.W., Qualls, C.W., Jr., MacWilliams, P.S., Root, C.R., 1983. Four cases of pulmonary nodular eosinophilic granulomatosis in dogs. *Cornell Vet.* 73, 41-51.
- Connell, P.S., Han, R.I., Grande-Allen, K.J., 2012. Differentiating the aging of the mitral valve from human and canine myxomatous degeneration. *J Vet Cardiol.* 14, 31-45.
- Courtney, C., Zeng, Q., 1987. Predicting heartworm burdens with a heartworm antigen test kit. *J Am Anim Hosp Assoc.* 23, 387-390.
- Courtney, C.H., Cornell, J.A., 1990. Evaluation of heartworm immunodiagnostic tests. *J Am Vet Med Assoc.* 197, 724-729.
- Chalifoux, L., Hunt, R.D., 1971. Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum*. *J Am Anim Hosp Assoc.* 158, 601-605.
- Chetboul, V., Tissier, R., 2012. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol.* 14, 127-148.
- Chiavegato, D., Borgarelli, M., D'Agnolo, G., Santilli, R.A., 2009. Pulmonary Hypertension in Dogs with Mitral Regurgitation Attributable to Myxomatous Valve Disease. *Vet Radiol Ultrasound.* 50, 253-258.
- Di Sacco, B., Vezzoni, A., 1992. Clinical classification of heartworm disease for the purpose of adding objectivity to the assessment of therapeutic efficacy of adulticidal drugs in the field. In: Soll, M.D. (Ed.), *Proceedings of the Heartworm Symposium*, Austin, TX, pp. 209–214.
- Diaz, J.H., 2015. Increasing Risks of Human *Dirofilaria immitis* in Travelers. *J Travel Med.* 22, 116-123.
- Diessler, M.E., Amo, A.N.d., 1999. Glomerulopatías inmunomediadas de perros y gatos: actualización de las distintas alternativas para su tratamiento. *Analecta Veterinaria.* 19, 18-29.
- Dillon, A.R., Brawner, W.R., Hanrahan, L., 1995. Influence of number of parasites and exercise on the severity of heartworm disease in dogs. *American Heartworm Society*, Batavia, 113-113 pp.
- Dillon, A.R., Warner, A.E., Brawner, W., Hudson, J., Tillson, M., 2008. Activity of pulmonary intravascular macrophages in cats and dogs with and without adult *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitol.* 158, 171-176.
- Ettinger, S.J., Feldman, E.C., 2009a. Heartworm Disease, in *Textbook of veterinary internal medicine*. PP 1353-80, Vol 2, Seventh edition, Edit. Elsevier Health Sciences.

- Ettinger, S.J., Feldman, E.C., 2009b. Pulmonary hypertension and pulmonary thromboembolism, in Textbook of veterinary internal medicine. PP 1138-41, Vol 2, Seventh edition, Edit. Elsevier Health Sciences.
- Ettinger, S.J., Feldman, E.C., 2009c. Glomerular Diseases, in Textbook of veterinary internal medicine. PP. 2021-7, Vol 2, Seventh edition. Edit. Elsevier Health Sciences.
- Fishman, A.P., 1976. State of the art: chronic cor pulmonale. *Am Rev Respir Dis.* 114, 775-794.
- Foil, L., Orihel, T.C., 1975. *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) in the Beaver, *Castor canadensis*. *J Parasitol.* 61, 433-433.
- Fonfara, S., Loureiro, J., Swift, S., James, R., Cripps, P., Dukes-McEwan, J., 2010. Cardiac troponin I as a marker for severity and prognosis of cardiac disease in dogs. *The Vet J.* 184, 334-339.
- Fukumoto, S., Hanazono, K., Miyasho, T., Endo, Y., Kadosawa, T., Iwano, H., Uchide, T., 2014. Serum big endothelin-1 as a clinical marker for cardiopulmonary and neoplastic diseases in dogs. *J Life Sci.* 118, 329-332.
- Gaynor, S.L., Maniar, H.S., Bloch, J.B., Steendijk, P., Moon, M.R., 2005. Right atrial and ventricular adaptation to chronic right ventricular pressure overload. *Circulation.* 112, I212-218.
- Genchi, C., Mortarino, M., Rinaldi, L., Cringoli, G., Traldi, G., Genchi, M., 2011. Changing climate and changing vector-borne disease distribution: The example of *Dirofilaria* in Europe. *Vet Parasitol.* 176, 295-299.
- Genchi, C., Rinaldi, L., Cascone, C., Mortarino, M., Cringoli, G., 2005. Is heartworm disease really spreading in Europe? *Vet Parasitol.* 133, 137-148.
- Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M., Cringoli, G., 2009. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Vet Parasitol.* 163, 286-292.
- Ghofrani, H.A., Voswinckel, R., Reichenberger, F., Olschewski, H., Haredza, P., Karadas, B., Schermuly, R.T., Weissmann, N., Seeger, W., Grimminger, F., 2004. Differences in hemodynamic and oxygenation responses to three different phosphodiesterase-5 inhibitors in patients with pulmonary arterial hypertension - A randomized prospective study. *J Am Coll Cardiol.* 44, 1488-1496.
- Giaid, A., Yanagisawa, M., Langleben, D., Michel, R.P., Levy, R., Shennib, H., Kimura, S., Masaki, T., Duguid, W.P., Stewart, D.J., 1993. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 328, 1732-1739.
- Glaus, T.M., Soldati, G., Maurer, R., Ehrensperger, F., 2004a. Clinical and pathological characterisation of primary pulmonary hypertension in a dog. *Vet Rec.* 154, 786-789.

- Glaus, T.M., Tomsa, K., Hassig, M., Reusch, C., 2004b. Echocardiographic changes induced by moderate to marked hypobaric hypoxia in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 45, 233-237.
- Goggin, J.M., Biller, D.S., Rost, C.M., DeBey, B.M., Ludlow, C.L., 1997. Ultrasonographic identification of *Dirofilaria immitis* in the aorta and liver of a dog. *J Am Vet Med Assoc*. 210, 1635-1637.
- Gonzalez-Miguel, J., Morchon, R., Carreton, E., Montoya-Alonso, J.A., Simon, F., 2015. Can the activation of plasminogen/plasmin system of the host by metabolic products of *Dirofilaria immitis* participate in heartworm disease endarteritis? *Parasit Vectors*. 8, 194.
- Gossett, K.A., Root, C.R., Cleghorn, B., Church, G.E., Turk, J.R., Turk, M.A., 1987. Effects of heartworm and intestinal parasitic infections on hematology and peripheral lymph node cytology in louisiana dogs. *Vet Clin Pathol*. 16, 97-101.
- Grandi, G., Quintavalla, C., Mavropoulou, A., Genchi, M., Gnudi, G., Bertoni, G., Kramer, L., 2010. A combination of doxycycline and ivermectin is adulticidal in dogs with naturally acquired heartworm disease (*Dirofilaria immitis*). *Vet Parasitol*. 169, 347-351.
- Grauer, G.F., Culham, C.A., Dubielzig, R.R., Longhofer, S.L., Grieve, R.B., 1989. Experimental *Dirofilaria immitis*-associated glomerulonephritis induced in part by in situ formation of immune complexes in the glomerular capillary wall. *J Parasitol*. 75, 585-593.
- Grieve, R.B., Knight, D.H., 1985. Anti-*Dirofilaria immitis* antibody levels before and after anthelmintic treatment of experimentally infected dogs. *J parasitol*. 71, 56-61.
- Grimes, J.A., Scott, K.D., Edwards, J.F., 2016. Aberrant heartworm migration to the abdominal aorta and systemic arteriolitis in a dog presenting with vomiting and hemorrhagic diarrhea. *Can Vet J*. 57, 76-79.
- Guglielmini, C., Civitella, C., Diana, A., Di Tommaso, M., Cipone, M., Luciani, A., 2010. Serum cardiac troponin I concentration in dogs with precapillary and postcapillary pulmonary hypertension. *J Vet Intern Med*. 24, 145-152.
- Guglin, M., Khan, H., 2010. Pulmonary hypertension in heart failure. *J Card Fail*. 16, 461-474.
- Gupta, H., Ghimire, G., Naeije, R., 2011. The value of tools to assess pulmonary arterial hypertension. *ERJ Open Res*. 20, 222-235.
- Hamir, A.N., 1987. Heartworm (*Dirofilaria immitis*) in the brain of a dog. *Vet Rec*. 120, 207-208.
- Hammoudi, N., Cohen, A., 2014. Right ventricular systolic function assessment by echocardiography in routine clinical practice: Simple and feasible. *Arch Cardiovasc Dis*. 107, 505-507.
- Hatano, S., Strasser, Toma., 1975. Primary pulmonary hypertension : report on a WHO meeting, Geneva, 15-17 October 1973 / edited by Shuichi Hatano and Toma Strasser. World Health Organization ; distributed by Q Corporation], Geneva : Albany, N.Y.



- Hidaka, Y., Hagio, M., Murakami, T., Okano, S., Natsuhori, K., Narita, N., 2003. Three Dogs Under 2 Years of Age with Heartworm Caval Syndrome. *J Vet Med Sci.* 65, 1147-1149.
- Hoch, H., Strickland, K., 2008. Canine and feline dirofilariasis: life cycle, pathophysiology, and diagnosis. *Compend Contin Educ Vet.* 30, 133-140.
- Holmes, R., Clark, J., Casey, H., Henk, W., Plue, R., 1992. Histopathologic and radiographic studies of the development of heartworm pulmonary vascular disease in experimentally infected cats. In *Proceedings, Heartworm Symposium 1992*. Washington DC: American Heartworm Society, 1992. 81-89.
- Huang, S., Smith, D.J., Molaei, G., Andreadis, T.G., Larsen, S.E., Lucchesi, E.F., 2013. Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Onchocercidae) infection in *Aedes*, *Culex*, and *Culiseta* mosquitoes from north San Joaquin Valley, CA. *J Med Entomol.* 50, 1315-1323.
- Johnson, L., Boon, J., Orton, E., 1999. Clinical characteristics of 53 dogs with Doppler-derived evidence of pulmonary hypertension: 1992-1996. *J Vet Intern Med.* 13, 440-447.
- Kamiie, J., Shirota, K., Yamaki, M., Kitagawa, H., Wasaki, M., Ooi, H.K., 2000. Abnormal distribution of anionic sites in the glomerular basement membrane in glomerulonephritis of dogs infected with *Dirofilaria immitis*. *J Vet Med Sci.* 62, 1193-1195.
- Kellihan, H.B., Mackie, B.A., Stepien, R.L., 2011. NT-proBNP, NT-proANP and cTnI concentrations in dogs with pre-capillary pulmonary hypertension. *J Vet Cardiol.* 13, 171-182.
- Kellihan, H.B., Stepien, R.L., 2010. Pulmonary hypertension in dogs: diagnosis and therapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 40, 623-641.
- Kellihan, H.B., Stepien, R.L., 2012a. Corrigendum to 'Pulmonary hypertension in canine degenerative mitral valve disease'. *J Vet Cardiol.* 14 (1), 149-164.
- Kellihan, H.B., Stepien, R.L., 2012b. Pulmonary hypertension in canine degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol.* 14 (1), 149-164.
- Kelly, J.D., 1973. Detection and differentiation of microfilariae in canine blood. *Aust Vet J.* 49, 23-27.
- Kim, H., Yung, G.L., Marsh, J.J., Konopka, R.G., Pedersen, C.A., Chiles, P.G., Morris, T.A., Channick, R.N., 2000. Endothelin mediates pulmonary vascular remodelling in a canine model of chronic embolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 15, 640-648.
- Kim, R., 1995. Radiographic evaluation of canine heartworm disease. *Korean J Vet Clin Med.* 12, 265-275.
- Kitabatake, A., Inoue, M., Asao, M., Masuyama, T., Tanouchi, J., Morita, T., Mishima, M., Uematsu, M., Shimazu, T., Hori, M., Abe, H., 1983. Non-invasive evaluation of pulmonary-hypertension by a pulsed doppler technique. *Circulation.* 68, 302-309.

- Kittleson, M.D., 1998. Heartworm infestation and disease (Dirofilariasis). In Kittleson MD, Kienle RD, Small Animal Cardiovascular Medicine. St. Louis: Edit. Mosby, Inc. PP 370-401.
- Knott, J., 1939. A method for making microfilarial surveys on day blood. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 33, 191-196.
- Konstantinides, S.V., Torbicki, A., Agnelli, G., Danchin, N., Fitzmaurice, D., Galie, N., Gibbs, J.S., Huisman, M.V., Humbert, M., Kucher, N., Lang, I., Lankeit, M., Lekakis, J., Maack, C., Mayer, E., Meneveau, N., Perrier, A., Pruszczyk, P., Rasmussen, L.H., Schindler, T.H., Svitil, P., Vonk Noordegraaf, A., Zamorano, J.L., Zompatori, M., 2014. 2014 ESC guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism. *Eur Heart J.* 35, 3033-3069, 3069a-3069k.
- Kotani, T., Tomimura, T., Ogura, M., Yoshida, H., Mochizuki, H., 1975. Cerebral infarction caused by *Dirofilaria immitis* in three dogs. *Nihon juigaku zasshi.* 37, 379-390.
- Kramer, L., Genchi, C., 2014. Where are we with Wolbachia and doxycycline: An in-depth review of the current state of our knowledge. *Vet Parasitol.* 206, 1-4.
- Kramer, L., Grandi, G., Leoni, M., Passeri, B., McCall, J., Genchi, C., Mortarino, M., Bazzocchi, C., 2008. Wolbachia and its influence on the pathology and immunology of *Dirofilaria immitis* infection. *Vet Parasitol.* 158, 191-195.
- Lankhaar, J.W., Westerhof, N., Faes, T.J., Marques, K.M., Marcus, J.T., Postmus, P.E., Vonk-Noordegraaf, A., 2006. Quantification of right ventricular afterload in patients with and without pulmonary hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 291, H1731-1737.
- Lee, A.C., Bowman, D.D., Lucio-Forster, A., Beall, M.J., Liotta, J.L., Dillon, R., 2011. Evaluation of a new in-clinic method for the detection of canine heartworm antigen. *Vet Parasitol.* 177, 387-391.
- Lee, A.C.Y., Montgomery, S.P., Theis, J.H., Blagburn, B.L., Eberhard, M.L., 2010. Public health issues concerning the widespread distribution of canine heartworm disease. *Trends Parasitol.* 26, 168-173.
- Lee, F.A., 1992. Hemodynamics of the right ventricle in normal and disease states. *Cardiol Clin.* 10, 59-67.
- Litster, A., Atkins, C., Atwell, R., Buchanan, J., 2005. Radiographic cardiac size in cats and dogs with heartworm disease compared with reference values using the vertebral heart scale method: 53 cases. *J Vet Cardiol.* 7, 33-40.
- Litster, A.L., Atwell, R.B., 2008. Feline heartworm disease: a clinical review. *J Feline Med Surg.* 10, 137-144.
- Little, S.E., Munzing, C., Heise, S.R., Allen, K.E., Starkey, L.A., Johnson, E.M., Meinkoth, J., Reichard, M.V., 2014. Pre-treatment with heat facilitates detection of antigen of *Dirofilaria immitis* in canine samples. *Vet Parasitol.* 203, 250-252.

- Lombard, C.W., Ackerman, N., 1984. Right heart enlargement in heartworm-infected dogs - a radiographic, electrocardiographic, and echocardiographic correlation. *Vet Radiol Ultrasound*. 25, 210-217.
- Magnis, J., Lorentz, S., Guardone, L., Grimm, F., Magi, M., Naucke, T.J., Deplazes, P., 2013. Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. *Parasit Vectors*. 6, 48.
- Menda, J., 1989. Transplacental migration of *Dirofilaria immitis* microfilariae. *Companion Anim. Pract.* 19(6-7), 18-20.
- Mantovani A, Jackson, R., 1966. Transplacental transmission of microfilariae of *Dirofilaria immitis* in the dog. *J Parasitol*. 52, 116.
- Marcos, R., Pereira, C., Santos, M., Luzzago, C., Lauzi, S., Maia, J.P., Faustino, A., Puente-Payo, P., 2016. Buffy coat smear or Knott's test: which to choose for canine microfilaria screening in field studies? *Vet Clin Pathol*. 45, 201-205.
- Marquardt W.C., Demaree R.S., Grieve R.B., 2000. *Parasitology and Vector Biology*. Second edition. Edit. Harcourt Academic Press, PP 702.
- Matsukubo, H., Matsuura, T., Endo, N., Asayama, J., Watanabe, T., 1977. Echocardiographic measurement of right ventricular wall thickness. A new application of subxiphoid echocardiography. *Circulation* 56, 278-284.
- Mauritz, G.J., Marcus, J.T., Westerhof, N., Postmus, P.E., Vonk-Noordegraaf, A., 2011. Prolonged right ventricular post-systolic isovolumic period in pulmonary arterial hypertension is not a reflection of diastolic dysfunction. *Heart*. 97, 473-478.
- Mavropoulou, A., Gnudi, G., Grandi, G., Volta, A., Kramer, L.H., Quintavalla, C., 2014a. Clinical assessment of post-adulticide complications in *Dirofilaria immitis*-naturally infected dogs treated with doxycycline and ivermectin. *Vet Parasitol*. 205, 211-215.
- McCall, J., Dzimianski, M., Plue, R., Seward, R., Blair, L., 1986. Ivermectin in heartworm prophylaxis: studies with experimentally induced and naturally acquired infections. In: *Heartworm Symposium'86, New Orleans (USA), 21-23 Mar 1986*.
- McCall, J., Guerrero, J., Roberts, R., Supakordej, N., Mansour, A., Dzimianski, M., McCall, S., 2001a. Further evidence of clinical prophylactic (reach-back) and adulticidal activity of monthly administration of ivermectin and pyrantel pamoate (Heartgard Plus) in dogs experimentally infected with heartworms. In: *Proceedings of the American Heartworm Symposium*. 189-200.
- McCall, J., Supakordej, N., Donoghue, A., Turnbull, R., Radecki, S., 2001b. Evaluation of the performance of canine heartworm antigen test kits licensed for use by veterinarians and

- canine heartworm antigen tests conducted by diagnostic laboratories. In: *Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium*. 97-104.
- McCall, J.W., 2005. The safety-net story about macrocyclic lactone heartworm preventives: a review, an update, and recommendations. *Vet Parasitol.* 133, 197-206.
- McCall, J.W., Arther, R., Davis, W., Settje, T., 2014a. Safety and efficacy of 10% imidacloprid + 2.5% moxidectin for the treatment of *Dirofilaria immitis* circulating microfilariae in experimentally infected dogs. *Vet Parasitol.* 206, 86-92.
- McCall, J.W., Genchi, C., Kramer, L., Guerrero, J., Dzimianski, M.T., Supakorndej, P., Mansour, A.M., McCall, S.D., Supakorndej, N., Grandi, G., Carson, B., 2008a. Heartworm and Wolbachia: Therapeutic implications. *Vet Parasitol.* 158, 204-214.
- McCall, J.W., Genchi, C., Kramer, L.H., Guerrero, J., Venco, L., 2008b. Heartworm disease in animals and humans. *Adv Parasitol.* 66, 193-285.
- McCall, J.W., Guerrero, J., Genchi, C., Kramer, L., Bazzocchi, C., Simon, F., Martarino, M., Am Heartworm, S., 2004. Recent advances in heartworm disease. *Vet Parasitol.* 125, 105-130.
- McCall, J.W., Kramer, L., Genchi, C., Guerrero, J., Dzimianski, M.T., Mansour, A., McCall, S.D., Carson, B., 2014b. Effects of doxycycline on heartworm embryogenesis, transmission, circulating microfilaria, and adult worms in microfilaremic dogs. *Vet Parasitol.* 206, 5-13.
- McIntyre, K.M., Sasahara, A.A., 1971. The hemodynamic response to pulmonary embolism in patients without prior cardiopulmonary disease. *Am J Cardiol.* 28, 288-294.
- McKay, T., Bianco, T., Rhodes, L., Barnett, S., 2013. Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) in mosquitoes from northeast Arkansas, the United States. *J Med Entomol.* 50, 871-878.
- McLaughlin, V.V., Archer, S.L., Badesch, D.B., Barst, R.J., Farber, H.W., Lindner, J.R., Mathier, M.A., McGoon, M.D., Park, M.H., Rosenson, R.S., 2009. ACCF/AHA 2009 Expert Consensus Document on Pulmonary Hypertension A Report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Expert Consensus Documents and the American Heart Association Developed in Collaboration With the American College of Chest Physicians; American Thoracic Society, Inc.; and the Pulmonary Hypertension Association. *J Am Coll Cardiol.* 53, 1573-1619.
- Mehta, S., Stewart, D.J., Langleben, D., Levy, R.D., 1995. Short-term pulmonary vasodilation with l-arginine in pulmonary-hypertension. *Circulation.* 92, 1539-45.
- Mendez, J.C., Carreton, E., Martinez-Subiela, S., Tvarijonaviciute, A., Ceron, J.J., Montoya-Alonso, J.A., 2015. Acute phase protein response in heartworm-infected dogs after adulticide treatment. *Vet Parasitol.* 209, 197-201.
- Molloy, W.D., Lee, K.Y., Girling, L., Schick, U., Prewitt, R.M., 1984. Treatment of shock in a canine model of pulmonary embolism. *Am Rev Respir Dis.* 130, 870-874.

- Moncada, S., Palmer, R., Higgs, E., 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 43, 109-142.
- Monlux, A.W., 1953. The histopathology of nephritis of the dog. 1 Introduction, 2 Inflammatory interstitial diseases. *Am J Vet Res.* 14, 425-439.
- Montoya-Alonso JA, Carretón E, Morchón R, Silveira-Viera L, Falcón Y, Simón F., 2016. The impact of the climate on the epidemiology of *Dirofilaria immitis* in the pet population of the Canary Islands. *Vet Parasitol.* 216, 66-71.
- Montoya-Alonso, J., Carretón, E., Corbera, J., Juste, M., Mellado, I., Morchón, R., Simón, F., 2011. Current prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs, cats and humans from the island of Gran Canaria, Spain. *Vet parasitol.* 176, 291-294.
- Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., 2012. *Dirofilariosis pautas de manejo clínico.* Multimédiva Ediciones Veterinarias, Barcelona, España, 1-130 pp.
- Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., Juste, M.C., Mellado, I., Morchón, R., Simón, F., 2010. Epidemiological survey of canine heartworm disease on the island of Gran Canaria (Canary Islands – Spain) between 2000 and 2008. *Vet Parasitol.* 173, 165-168.
- Montoya, J.A., Morales, M., Ferrer, O., Molina, J.M., Corbera, J.A., 1998. The prevalence of *Dirofilaria immitis* in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994-1996). *Vet Parasitol.* 75, 221-226.
- Morchon, R., Carreton, E., Gonzalez-Miguel, J., Mellado-Hernandez, I., 2012. Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe - New Distribution Trends. *Front Physiol.* 3, 196, 1-11.
- Munnell, J.F., Weldon, J.S., Lewis, R.E., Thrall, D.E., McCall, J.W., 1980. Intimal lesions of the pulmonary artery in dogs with experimental dirofilariosis. *Am J Vet Res.* 41, 1108-1112.
- Mupanomunda, M., Williams, J.F., Mackenzie, C.D., Kaiser, L., 1997. *Dirofilaria immitis*: heartworm infection alters pulmonary artery endothelial cell behavior. *J Appl Physiol.* 82, 389-398.
- Mylonakis, M.E., Papadopoulos, E., Koutinas, A.F., Paitaki, C., Leontides, L., 2004. Comparative methodology for the detection and differentiation of circulating microfilariae of *Dirofilaria immitis* in the dog. *J Helminthol.* 78, 137-140.
- Naeije, R., 2013. Physiology of the pulmonary circulation and the right heart. *Curr Hypertens Rep.* 15, 623-631.
- Nakagaki, K., Nogami, S., Hayashi, Y., Hammerberg, B., Tanaka, H., Ohishi, I., 1993. *Dirofilaria immitis*: detection of parasite-specific antigen by monoclonal antibodies in glomerulonephritis in infected dogs. *Parasitol Res.* 79, 49-54.



- Nduka, N., 1985. Serum aspartate and alanine aminotransferase in filariasis. *Clin Chim Acta; international journal of clinical chemistry.* 149, 75-79.
- Niwetpathomwat, A., Kaewthamasorn, M., Tiawsirisup, S., Techangamsuwan, S., Suvarnvibhaja, S., 2007. A retrospective study of the clinical hematology and the serum biochemistry tests made on canine dirofilariasis cases in an animal hospital population in Bangkok Thailand. *Res Vet Sci.* 82, 364-369.
- Oh, H.W., Jun, H.K., You, M.J., Hayasaki, M., Song, K.H., 2008. Ectopic migration of an adult heartworm in a dog with dirofilariasis. *Korean J Parasitol.* 46, 171-173.
- Nyland, T. G. 2004. Tetralogía de Fallot, en *Diagnóstico ecográfico en pequeños animales.* PP 419, Vol. 1. Segunda edición. Edit. Multimédica.
- Ömura, S. 2008. Ivermectin: 25 years and still going strong. *International Journal of Antimicrobial Agents,* 31, 91-98.
- Opitz, C.F., Blindt, R., Blumberg, F., Borst, M.M., Bruch, L., Leuchte, H.H., Lichtblau, M., Nagel, C., Peters, K., Rosenkranz, S., Schranz, D., Skowasch, D., Tiede, H., Weil, J., Ewert, R., 2011. Pulmonary hypertension: Hemodynamic evaluation. Updated Recommendations of the Cologne Consensus Conference 2011. *Int J Cardiol.* 154, S13-S19.
- Otranto, D., Dantas-Torres, F., Brianti, E., Traversa, D., Petric, D., Genchi, C., Capelli, G., 2013. Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe. *Parasit Vectors.* 6, 1-14.
- Otto, G.F. 1975. Occurrence of the heartworm in unusual locations and in unusual hosts. *Proceedings of the Heartworm Symposium 1974, 16-17 March, 1974, Auburn, Alabama, USA.* VM Publishing, Inc. 6-13.
- Oui, H., Oh, J., Keh, S., Lee, G., Jeon, S., Kim, H., Yoon, J., Choi, J., 2015. Measurements of the pulmonary vasculature on thoracic radiographs in healthy dogs compared to dogs with mitral regurgitation. *Vet Radiol.* 56, 251-256.
- Oyama, M.A., Sisson, D.D., 2004. Cardiac Troponin-I Concentration in Dogs with Cardiac Disease. *J Vet Intern Med.* 18, 831-839.
- Paradies, P., Spagnolo, P.P., Amato, M.E., Pulpito, D., Sasanelli, M., 2014. Doppler echocardiographic evidence of pulmonary hypertension in dogs: a retrospective clinical investigation. *Vet Res Commun.* 38, 63-71.
- Pariaut, R., Saelinger, C., Strickland, K.N., Beaufreere, H., Reynolds, C.A., Vila, J., 2012. Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (TAPSE) in Dogs: Reference Values and Impact of Pulmonary Hypertension. *J Vet Intern Med.* 26, 1148-1154.
- Passeri, B., Vismarra, A., Cricri, G., Bazzocchi, C., Kramer, L., Bacci, C., 2014. The adulticide effect of a combination of doxycycline and ivermectin in *Dirofilaria immitis*-experimentally infected dogs is associated with reduction in local T regulatory cell populations. *Vet Parasitol.* 205, 208-210.

- Poser, H., Guglielmini, C., 2016. Pulmonary Hypertension in the Dog. *Acta Veterinaria*. 66, 1-25.
- Pyle, R., Park, R., Alexander, A., Hill, B., 1981. Patent ductus arteriosus with pulmonary hypertension in the dog. *Am Vet Med Assoc*. 178, 565-571.
- Pyle, R.L., Abbott, J., MacLean, H., 2004. Pulmonary hypertension and cardiovascular sequelae in 54 dogs. *Intern J Appl Res Vet Med*. 2, 99-109.
- Quinn, R.L., Williams, J.G., 2011a. Canine pulmonary hypertension Part 1: An in-depth review of its pathophysiology and classifications. *Veterinary Medicine*. 6, 454-459.
- Quinn, R.L., Williams, J.G., 2011b. Canine pulmonary hypertension, Part 2: Diagnosis and treatment. *Veterinary Medicine*. 6, 26-36.
- Rawlings, C.A., 1982. Clinical laboratory evaluations of seven heartworm infected beagles: during disease development and following treatment. *Cornell Vet*. 72, 49-56.
- Rawlings, C.A., 1986. Heartworm disease in dogs and cats. WB Saunders Company. 1, 326.
- Rawlings, C.A., Losonsky, J.M., Lewis, R.E., McCall, J.W., 1981. Development and resolution of radiographic lesions in canine heartworm disease. *J Am Vet Med Assoc*. 178, 1172-1177.
- Rawlings, C.A., Tackett, R.L., 1990. Postadulthood pulmonary hypertension of canine heartworm disease: successful treatment with oxygen and failure of antihistamines. *Am J Vet Res*. 51, 1565-1569.
- Rishniw, M., Barr, S.C., Simpson, K.W., Frongillo, M.F., Franz, M., Dominguez Alpizar, J.L., 2006. Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction. *Vet Parasitol*. 135, 303-314.
- Rishniw, M., Erb, H.N., 2000. Prevalence and characterization of pulmonary regurgitation in normal adult dogs. *J Vet Cardiol*. 2, 17-21.
- Romand, J.A., Pinsky, M.R., Firestone, L., Zar, H.A., Lancaster, J.R., Jr., 1994. Effect of inhaled nitric oxide on pulmonary hemodynamics after acute lung injury in dogs. *J Appl Physiol* (1985). 76, 1356-1362.
- Rudski, L.G., Lai, W.W., Afilalo, J., Hua, L., Handschumacher, M.D., Chandrasekaran, K., Solomon, S.D., Louie, E.K., Schiller, N.B., 2010. Guidelines for the Echocardiographic Assessment of the Right Heart in Adults: A Report from the American Society of Echocardiography Endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 23, 685-713.
- Ryan, J.J., Thenappan, T., Luo, N., Ha, T., Patel, A.R., Rich, S., Archer, S.L., 2012. The WHO classification of pulmonary hypertension: A case-based imaging compendium. *Pulm Circ*. 2, 107-121.

- Sasaki, Y., Kitagawa, H., Hirano, Y. 1992. Relationship between Pulmonary Arterial Pressure and Lesions in the Pulmonary Arteries and Parenchyma, and Cardiac Valves in Canine Dirofilariasis. In *J. Vet. Med. Sci.* 54, 739-744.
- Schober, K., Baade, H., 2006. Doppler echocardiographic prediction of pulmonary hypertension in West Highland white terriers with chronic pulmonary disease. *J Vet Intern Med.* 20, 912-920.
- Schönemeyer, A., Lucius, R., Sonnenburg, B., Brattig, N., Sabat, R., Schilling, K., Bradley, J., Hartmann, S., 2001. Modulation of human T cell responses and macrophage functions by onchocystatin, a secreted protein of the filarial nematode *Onchocerca volvulus*. *J Immunol.* 167, 3207-3215.
- Serres, F., Chetboul, V., Gouni, V., Tissier, R., Sampedrano, C.C., Pouchelon, J.L., 2007. Diagnostic value of echo-Doppler and tissue Doppler imaging in dogs with pulmonary arterial hypertension. *J Vet Intern Med* 21, 1280-1289.
- Serres, F., Nicolle, A.P., Tissier, R., Gouni, V., Pouchelon, J.L., Chetboul, V., 2006. Efficacy of oral tadalafil, a new long-acting phosphodiesterase-5 inhibitor, for the short-term treatment of pulmonary arterial hypertension in a dog. *J Vet Med Ser A-Physiol. Pathol Clin Med.* 53, 129-133.
- Sharma, M.C., Pachauri, S.P., 1982. Blood cellular and biochemical studies in canine dirofilariasis. *Vet Res Commun.* 5, 295-300.
- Shirota, K., Takahashi, R., Fujiwara, K., Hasegawa, A., 1979. Canine interstitial nephritis with special reference to glomerular lesions and filariasis. *Nihon juigaku zasshi. Jpn J Vet Res.* 41, 119-129.
- Silva, A.C., Oberlender, G., Mantovani, M.M., Muzzi, R.A.L., Pereira, L.J., Zangeronimo, M.G., 2014. Efficacy of sildenafil therapy for pulmonary hypertension in dogs: a systematic review. *Arch. Med. Vet.* 46, 277-287.
- Simón, F., Morchón, R., González-Miguel, J., Marcos-Atxutegi, C., Siles-Lucas, M., 2009. What is new about animal and human dirofilariasis? *Trends Parasitol* 25, 404-409.
- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., Montoya-Alonso, J., 2012. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev* 25, 507-544.
- Simonneau, G., Gatzoulis, M.A., Adatia, I., Celermajer, D., Denton, C., Ghofrani, A., Sanchez, M.A.G., Kumar, R.K., Landzberg, M., Machado, R.F., Olschewski, H., Robbins, I.M., Souza, R., 2013. Updated Clinical Classification of Pulmonary Hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 62, 34-41.
- Simonneau, G., Robbins, I.M., Beghetti, M., Channick, R.N., Delcroix, M., Denton, C.P., Elliott, C.G., Gaine, S.P., Gladwin, M.T., Jing, Z.C., Krowka, M.J., Langleben, D., Nakanishi, N.,

- Souza, R., 2009. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 54, S43-54.
- Smulders, Y.M., 2000. Pathophysiology and treatment of haemodynamic instability in acute pulmonary embolism: the pivotal role of pulmonary vasoconstriction. *Cardiovasc Res.* 48, 23-33.
- Smythe, A.B., Sanderson, M.J., Nadler, S.A., 2006. Nematode small subunit phylogeny correlates with alignment parameters. *Syst. Biol.* 55, 972-992.
- Snyder, J.W., Liu, S.K., Tashjian, R.J., 1967. Blood chemical and cellular changes in canine dirofilariasis. *Am J Vet Res.* 28, 1705-1710.
- Soydan, L.C., Kellihan, H.B., Bates, M.L., Stepien, R.L., Consigny, D.W., Bellofiore, A., Francois, C.J., Chesler, N.C., 2015. Accuracy of Doppler echocardiographic estimates of pulmonary artery pressures in a canine model of pulmonary hypertension. *J Vet Cardiol.* 17, 13-24.
- Stepanovic, P., Ilic, T., Krstic, N., Dimitrijevic, S., 2015. Efficiency of modified therapeutic protocol in the treatment of some varieties of canine cardiovascular dirofilariasis. *Bull Vet Inst Pulawy.* 59, 505-509.
- Stepien, R.L., 2009. Pulmonary arterial hypertension secondary to chronic left-sided cardiac dysfunction in dogs. *J Small Anim Pract.* 50 Suppl 1, 34-43.
- Strickland, K.N., 1998. Canine and feline caval syndrome. *Clin Tech Small Anim Pract.* 13, 88-95.
- Subias, P.E., Mir, J.A.B., Suberviola, V., 2010. Evaluación diagnóstica y pronóstica actual de la hipertensión pulmonar. *Rev Esp Cardiol.* 63, 583-596.
- Tai, T., Huang, H., 2013. Echocardiographic assessment of right heart indices in dogs with elevated pulmonary artery pressure associated with chronic respiratory disorders, heartworm disease, and chronic degenerative mitral valvular disease. *Vet Med (Praha).* 58, 613-620.
- Talavera, J., Fernández-del-Palacio, J., 2007. Hipertensión pulmonar en perros y gatos. *Clin Vet Peq Anim.* 27, 37-18.
- Tanaka, K.I., Atwell, R.B., 1993. Immunohistological observations on pulmonary tissues from dogs infected with *Dirofilaria immitis*. *Vet Res Commun.* 17, 109-117.
- Tazar, J., Álvarez, M.S., 2012. Cuantificación de función sistólica del ventrículo derecho en pacientes con Hipertensión pulmonar. *Rev Fed Arg Cardiol.* 41, 89-95.
- Thomas, W.P., Gaber, C.E., Jacobs, G.J., Kaplan, P.M., Lombard, C.W., Vet, M., Moise, N.S., Moses, B.L., 1993. Recommendations for Standards in Transthoracic Two-Dimensional Echocardiography in the Dog and Cat. *J Vet Intern Med.* 7, 247-252.

- Thrall, D., Losonsky, J., 1976. A method for evaluating canine pulmonary circulatory dynamics from survey radiographs [in cases of cardiopulmonary disease, dogs]. *Journal American Animal Hospital Association (JAAHA)*. 12, 457-462.
- Todd, K.S., Jr., Howland, T.P., 1983. Transplacental transmission of *Dirofilaria immitis* microfilariae in the dog. *J Parasitol*. 69, 371.
- Tsuda, T., Sawayama, T., Kawai, N., Katoh, T., Nezu, S., Kikawa, K., 1980. Echocardiographic measurement of right ventricular wall thickness in adults by anterior approach. *Br Heart J*. 44, 55-61.
- Tudor, N., Ionita, L., Tapaloaga, D., Tudor, P., Ionita, C., Vlagioiu, C., 2014. Radiographic cardiopulmonary changes in dogs with heartworm disease. *Rom Biotechnol Lett*. 19, 9918-9924.
- Uchide, T., Saida, K., 2005. Elevated endothelin-1 expression in dogs with heartworm disease. *J Vet Med Sci*. 67, 1155-1161.
- Velasquez, L., Blagburn, B.L., Duncan-Decoq, R., Johnson, E.M., Allen, K.E., Meinkoth, J., Gruntmeir, J., Little, S.E., 2014. Increased prevalence of *Dirofilaria immitis* antigen in canine samples after heat treatment. *Vet Parasitol*. 206, 67-70.
- Venco, L., Bertazzolo, W., Giordano, G., Paltrinieri, S., 2014a. Evaluation of C-reactive protein as a clinical biomarker in naturally heartworm-infected dogs: a field study. *Vet Parasitol*. 206, 48-54.
- Venco, L., Genchi, C., Colson, P.V., Kramer, L., 2001. Relative Utility of Echocardiography, Radiography, Serologic Testing and Microfilariae Counts to Predict Adult Worm Burden in Dogs Naturally Infected with Heartworms. *Recent Advances in Heartworm Disease Symposium 1*, 111-124.
- Venco, L., McCall, J.W., Guerrero, J., Genchi, C., 2004. Efficacy of long-term monthly administration of ivermectin on the progress of naturally acquired heartworm infections in dogs. *Vet Parasitol*. 124, 259-268.
- Venco, L., Mihaylova, L., Boon, J.A., 2014b. Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index). A field study of an echocardiographic method to detect early development of pulmonary hypertension and its severity even in the absence of regurgitant jets for Doppler evaluation in heartworm-infected dogs. *Vet Parasitol*. 206, 60-66.
- Visser, L.C., Im, M.K., Johnson, L.R., Stern, J.A., 2016. Diagnostic Value of Right Pulmonary Artery Distensibility Index in Dogs with Pulmonary Hypertension: Comparison with Doppler Echocardiographic Estimates of Pulmonary Arterial Pressure. *J Vet Intern Med*. 30, 543-552.
- Wang, L.C., 1998. Comparison of a whole-blood agglutination test and an ELISA for the detection of the antigens of *Dirofilaria immitis* in dogs. *Ann Trop Med Parasitol* 92, 73-77.



## BIBLIOGRAFÍA

- Wells, S.M., Sleeper, M., 2008. Cardiac troponins. *J Vet Emerg Crit Care*. 18, 235-245.
- Wolstenholme, A.J. 2013. What do the macrocyclic lactones do to heartworms, and how do they do it?. *Heartworms Today: The Search for Solutions Symposium, 14<sup>th</sup> Triennial Heartworm symposium*. New Orleans, USA.22-3., pp. 22-23.
- Wu, D.K., Hsiao, S.H., Lin, S.K., Lee, C.Y., Yang, S.H., Chang, S.M., Chiou, K.R., 2008. Main pulmonary arterial distensibility: different presentation between chronic pulmonary hypertension and acute pulmonary embolism. *Circ J: official journal of the Japanese Circulation Society*. 72, 1454-1459.
- Zapol, W.M., Rimar, S., Gillis, N., Marletta, M., Bosken, C.H., 1994. Nitric oxide and the lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 149, 1375-1380.





## 8 CURRICULUM VITAE

---



## CURRICULUM VITAE

### FORMACION ACADEMICA

01-11-2001: Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. (Universidad Veracruzana, México).

01-08-2005: Especialidad en Medicina y Cirugía en Pequeñas Especies, Perros y Gatos. (Universidad Nacional Autónoma de México).

01-11-2008: Maestría en Docencia Biomédica (Universidad Autónoma de Ciudad Juárez).

### PUBLICACIONES

#### PUBLICACIONES NO INDEXADAS

Elena Carretón, Bernardo Serrano, José Alberto Montoya-Alonso. Dirofilariosis cardiopulmonar canina. Revista Canis et Felis, número 127, abril 2014. Enfermedades cardiorespiratorias del perro. Editorial Acalanthis, Madrid.

Bernardo Serrano, Elena Carretón, José Alberto Montoya-Alonso. Hipertensión pulmonar arterial: aspectos básicos. Revista Canis et Felis, número 133, abril 2015. Enfermedades cardiorespiratorias de pequeños animales. Editorial Luzan, Madrid.

#### CONTRIBUCION A CONGRESOS INTERNACIONALES

Bernardo Serrano, Elena Carretón, Alicia Caro, José Alberto Montoya. “Cambios ecocardiográficos en arteria pulmonar en perros con dirofilariosis cardiopulmonar” (*dirofilaria immitis*). Congreso Veterinario de León, México, del 3 al 6 de septiembre de 2014, León Guanajuato, México. Poster.

José Alberto Montoya, Elena Carretón, Bernardo Serrano, Alicia Caro. “Dirofilariosis: actualización clínica de una enfermedad emergente” en el Southern European Veterinary Conference, en el marco del 49 Congreso Nacional de la Asociación de Veterinarios Españoles Especialistas en Pequeños Animales (AVEPA). Del 16 al 18 de octubre 2014. Barcelona, España. Comunicación oral.



## CURRICULUM VITAE

Bernardo Serrano, Elena Carretón, Alicia Caro-Vadillo, Yaiza Falcón, José Alberto Montoya-Alonso “Diagnóstico temprano de hipertensión pulmonar arterial en perros con *Dirofilariosis* cardiopulmonar”. 5º simposio becarios CONACYT en Europa, del 6 al 8 de abril de 2016, organizado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México. Estrasburgo Francia. Comunicación oral.

José Alberto Montoya-Alonso, Elena Carretón, Soraya Falcón, Bernardo Serrano y Yaiza Falcón. “Fisiopatología y sintomatología de la *dirofilariosis*: últimos avances. “En el II International Workshop of *Dirofilarias*. Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Santa Cruz de Tenerife, 4 de junio de 2016. Organizado por el Colegio Oficial de Veterinarios de Santa Cruz de Tenerife. Ponencia.

Elena Carretón, Soraya Falcón, Bernardo Serrano, Yaiza Falcón y José Alberto Montoya-Alonso. “Diagnóstico de la *dirofilariosis* en el perro”. En el Congreso II International Workshop of *Dirofilarias*. Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Santa Cruz de Tenerife, 4 de junio de 2016. Organizado por el Colegio Oficial de Veterinarios de Santa Cruz de Tenerife. Ponencia.

José Alberto Montoya-Alonso, Elena Carretón, Yaiza Falcón, Bernardo Serrano y Soraya Falcón. “*Dirofilariosis* felina”. En el Congreso II International Workshop of *Dirofilarias*. Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Santa Cruz de Tenerife, 4 de junio de 2016. Organizado por el Colegio Oficial de Veterinarios de Santa Cruz de Tenerife. Ponencia.

Elena Carretón, Yaiza Falcón, Bernardo Serrano, Soraya Falcón y José Alberto Montoya-Alonso “Tratamiento de la *Dirofilariosis*”. En el Congreso II International Workshop of *Dirofilarias*. Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Santa Cruz de Tenerife, 4 de junio de 2016. Organizado por el Colegio Oficial de Veterinarios de Santa Cruz de Tenerife. Ponencia.

Elena Carretón, Bernardo Serrano, Aiste Tvarijonaviciute, Silvia Martínez Subiela, Alicia Caro Vadillo, José Alberto Montoya Alonso. Use of acute phase proteins and markers of oxidative stress to assess the severity of the pulmonary hypertension in heartworm-infected dogs. En 15th Triennial Symposium of the American Heartworm Society. September 11-13, 2016. American Heartworm Society. New Orleans., Estados Unidos.. Ponencia.

### CONTRIBUCION A CONGRESOS NACIONALES.

Elena Carretón, Fátima Sánchez, Bernardo Serrano, Alicia Caro, José Alberto Montoya. “Dirofilariosis canina: el parásito que llega al corazón”, presentado en el marco de la conferencia Science+ auspiciado por la Universidad del País Vasco en Bilbao, y organizado por la sociedad de científicos españoles en Alemania, Reino Unido, Dinamarca y Suecia, 7 al 9 de mayo 2015. Poster.

Carretón E., Serrano B., Caro A., “Epidemiología de dirofilaria immitis en la población canina de las Islas Canarias”, en el primer congreso de jóvenes investigadores de Canarias, organizado por la asociación de jóvenes investigadores de Tenerife, y, el Vicerrectorado de posgrado de la Universidad de la Laguna, en San Cristóbal de la Laguna, Tenerife el 10 de abril de 2015. Comunicación oral.

Montoya JA, Carretón E, Falcón Y, Falcón S y Serrano B. “Actualización en Dirofilariosis”, C en el XXXIII Congreso de Asociación Madrileña de Veterinarios de Animales de Compañía AMVAC. Organizado por Bayer y Asociación Madrileña de Veterinarios de Animales de compañía AMVAC internacional, del 3 – 5 de marzo de 2016. Madrid, España. Ponencia.

Yaiza Falcón, Bernardo Serrano, Elena Carretón, José Alberto Montoya-Alonso. “Índice cardiaco-vertebral y valoración radiológica de las arterias pulmonares como indicador pronóstico en perros con dirofilariosis (*dirofilaria immitis*)”. En la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid 21-23 de abril de 2016. En el congreso XI Jornadas Complutenses. X Congreso Nacional Investigación Alumnos Pregraduados En Ciencias De La Salud. XV Congreso De Ciencias Veterinarias Y Biomédicas. Universidad Complutense de Madrid. Comunicación oral.

Soraya Falcón, Bernardo Serrano, Elena Carretón, José Alberto Montoya-Alonso. “Evaluación del índice de distensibilidad de la arteria pulmonar derecha en perros con dirofilariosis (*dirofilaria immitis*). En el congreso XI Jornadas Complutenses. X Congreso Nacional Investigación Alumnos Pregraduados en Ciencias De La Salud. XV Congreso De Ciencias Veterinarias Y Biomédicas. Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid 21-23 de abril de 2016. Universidad Complutense de Madrid. Comunicación oral.

## CAPITULOS DE LIBROS Y MONOGRAFIA

Elena Carretón, Bernardo Serrano. “Tromboembolismo pulmonar”, en el libro Manual de enfermedades respiratorias en animales de compañía, de los autores J.A. Montoya-Alonso y L. García Gausch, ISBN: 978-84-96344-61-7, de Multimedia ediciones veterinarias 2016.

José Alberto Montoya-Alonso, Elena Carretón, Soraya Falcón, Bernardo Serrano, Yaiza Falcón. “Fisiopatología y sintomatología de la dirofilariosis: últimos avances”, en el libro Conclusiones II International Workshop of Dirofilarias, de los autores J. A. Montoya-Alonso y E. Carretón, ISBN 978-84-608-9395-0, de Grupo Asis Biomedica S.L.

Elena Carretón, Soraya Falcón, Bernardo Serrano, Yaiza Falcón, José Alberto Montoya-Alonso. “Diagnóstico de la dirofilariosis en el perro”, en el libro Conclusiones II International Workshop of Dirofilarias, de los autores J. A. Montoya-Alonso y E. Carretón, ISBN 978-84-608-9395-0, de Grupo Asis Biomedica S.L.

José Alberto Montoya-Alonso, Elena Carretón, Yaiza Falcón, Bernardo Serrano, Soraya Falcón. “Dirofilariosis felina”, en el libro Conclusiones II International Workshop of Dirofilarias, de los autores J. A. Montoya-Alonso y E. Carretón, ISBN 978-84-608-9395-0, de Grupo Asis Biomedica S.L.

Elena Carretón, Yaiza Falcón, Bernardo Serrano, Soraya Falcón, José Alberto Montoya-Alonso. “Pautas para el tratamiento y prevención de la dirofilariosis”, en el libro Conclusiones II International Workshop of Dirofilarias, de los autores J. A. Montoya-Alonso y E. Carretón, ISBN 978-84-608-9395-0, de Grupo Asis Biomedica S.L.

## ASISTENCIA CURSOS CONGRESOS

“I Encuentro de Investigación Biomédica y Sanitaria de Canarias”, del Instituto Universitario de Investigaciones Biomédicas y Sanitarias (IUIBS) de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), del 29 al 30 de abril de 2016, Las Palmas de Gran Canaria, España.

“II International Workshop of dirofilarias”. Organizado por el Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Santa Cruz de Tenerife, en colaboración con la European Society of Dirofilariosis and Angiostrongylosis y el Servicio de Medicina Veterinaria e Investigación Terapéutica de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria. El 4 de Junio de 2016. Santa Cruz de Tenerife, España.

### PREMIOS

Elena Carretón Gómez, Bernardo Serrano Parreño, José Alberto Montoya-Alonso. Premio laboratorios Boehringer Ingelheim a la divulgación científica 2014, con el tema “Dirofilariosis cardiopulmonar canina”, por la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España.

Bernardo Serrano Parreño, Elena Carretón Gómez, José Alberto Montoya-Alonso. Premio laboratorios Boehringer Ingelheim a la divulgación científica 2015, con el tema “Actualización en hipertensión pulmonar arterial en perros. Conceptos básicos.”, por la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España.



## 9 ANEXOS

---





## 9.1 ÍNDICE DE IMÁGENES

|   |    |
|---|----|
| Imagen 1. Prevalencia de <i>Dirofilaria immitis</i> en España.....  | 13 |
| Imagen 2 Distribución mundial dirofilaria. ....   | 14 |
| Imagen 3. Parasitos adultos de <i>Dirofilaria immitis</i> . ....  | 15 |
| Imagen 4. Ciclo de vida de <i>Dirofilaria immitis</i> .....   | 17 |
| Imagen 5. Mosquito del género <i>Culex</i> y <i>aedes</i> spp.....  | 18 |
| Imagen 6. Distribución de mosquitos del genero <i>Aedes albopictus</i> en Europa .....  | 19 |
| Imagen 7. Microfilaria de <i>Dirofilaria immitis</i> . Tinción con hematoxilina-eosina x40. ....  | 20 |
| Imagen 8. Comparación de distribución geografica en Europa de <i>Dirofilaria immitis</i><br>en perros en el periodo 2001-2011.....                                  | 21 |
| Imagen 9. Prevalencia <i>Dirofilaria Immitis</i> en Islas Canarias. ....  | 22 |
| Imagen 10. Endarteritis pulmonar prliferaiva secundario a <i>Dirofilaria immitis</i> .....  | 23 |
| Imagen 11. Filarias adultas en vasculatura pulmonar. Proteínas de superficie de <i>Wolbachia</i><br><i>pipientis</i> en pulmón de perro infectado naturalmente..... | 24 |
| Imagen 12. Cambios presentes en corazón con hipertensión pulmonar.....  | 25 |
| Imagen 13. Estudio radiográfico lateral izquierda-derecha, con signos radiográficos de<br>tromboembolismo pulmonar. ....  | 28 |
| Imagen 14. Medición de dímero-D, en un perro con tromboembolismo pulmonar por<br>dirofilariosis cardiopulmonar. ....  | 29 |
| Imagen 15. Ecografía y necropsia mostrando gusanos de <i>D. immitis</i> en aorta abdominal.....   | 30 |
| Imagen 16. Paciente con signología de insuficiencia cardiaca congestiva derecha secundario a<br>dirofilariosis cardiopulmonar canina.....                           | 31 |
| Imagen 17. Ejemplo de pruebas serologicas de antígeno para diagnóstico de dirofilaria immitis.<br>.....   | 32 |
| Imagen 18. Serie de estudios radiográficos torácicos DV donde se aprecian el desarrollo<br>de los cambios secundarios a dirofilariosis cardiopulmonar .....         | 36 |
| Imagen 19. Estudio radiográfico Li-Ld, con cambios compatibles a tromboembolismo pulmonar<br>secundario a dirofilariosis cardiopulmonar. ....                       | 37 |

|  |    |
|--|----|
| Imagen 20. Ecocardiografía en corte transversal transaortico de arteria pulmonar con evidencia de filarias adultas en arteria pulmonar derecha. ....   | 40 |
| Imagen 21. Ecocardiografía en corte transversal transaortico de arteria pulmonar, con presencia de filarias adultas en arteria pulmonar derecha y pulmonar principal.....                                  | 40 |
| Imagen 22. Ecocardiografía en corte transversal transaortico de arteria pulmonar, donde se aprecian filarias adultas en arteria pulmonar principal y derecha, a nivel de valvula pulmonar. ....            | 41 |
| Imagen 23. Ecocardiografía con imagen de hipertrofia excéntrica de ventrículo derecho (VD) secundario a dirofilariosis cardiopulmonar canina, así como presencia de filarias adultas en atrio derecho..... | 42 |
| Imagen 24. Electrocardiogramas con presencia arritmias en perros con dirofilariosis cardiopulmonar. ....   | 43 |
| Imagen 25. Hemoglobinuria secundaria a dirofilariosis cardiopulmonar, en caso de síndrome de vena cava, comparado con una muestra normal. ....   | 44 |
| Imagen 26. Representación esquematica del mecanismo de acción de lactonas macrociclicas.....   | 45 |
| Imagen 27. Presentación comercial de melarsomina, para tratamiento adulticida.....   | 49 |
| Imagen 28. Extracción quirúrgica de filarias adultas.. ....  | 51 |
| Imagen 29. Interacción de mediadores vasoactivos en la fisiopatología de hipertensión pulmonar. ....   | 55 |
| Imagen 30. Estudios radiográficos de silueta cardiaca con dilatación de arteras pulmonares y patrón intersticial no estructurado, con imagen de signo de “D invertida” y arteria pulmonar prominente. .... | 65 |
| Imagen 31. Evaluación Doppler espectral de insuficiencia tricuspidea en paciente con dirofilariosis cardiopulmonar para diagnóstico de HPT.....  | 67 |
| Imagen 32. Evaluación Doppler espectral de insuficiencia pulmonar en paciente con dirofilariosis cardiopulmonar para diagnóstico de HPT.....   | 68 |
| Imagen 33. Imagen ecocardiografica, por ventana paraesternal izquierda, en corte de 4 camaras donde se aprecia dilatación de VD y AD.....  | 69 |
| Imagen 34. Imagen ecocardiográfica, por ventana paraesternal derecha, en corte transversal trfansaortico donde se aprecia dilatación evidente de AP. ....  | 70 |

|   |    |
|---|----|
| Imagen 35. Imagen ecocardiográfica por ventana paraesternal derecha en corte transversal de ventrículo izquierdo, donde se aprecia, dilatación de VD con aplanamiento septal..... | 70 |
| Imagen 36. Perfil de velocidad de flujo sistólico de la arteria pulmonar. ....  | 71 |
| Imagen 37. Perfil Doppler de flujo sistólico pulmonar para medición de TA y TE .....  | 71 |
| Imagen 38. Corte ecocardiográfico para obtención de (DAPD), distensibilidad de arteria pulmonar derecha. ....   | 72 |
| Imagen 39. Serie de imágenes ecocardiográficas , mostrando los diferentes grados del DAPD ..  | 73 |
| Imagen 40. Medición de TAPSE a nivel del aspecto lateral del anillo de la válvula tricúspide. ....  | 74 |

## 9.2 ÍNDICE DE TABLAS.

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Clasificación clínica de dirofilariosis canina. ....                     | 46 |
| Tabla 2. Clasificación del estado de gravedad según eventos tromboembólicos. .... | 47 |
| Tabla 3. Indicaciones de uso de lactonas macrocíclicas en microfilaremia. ....    | 48 |