

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



HOW CRYSTAL CLEAR IS IT? - ESTUDO MORFOMÉTRICO E HISTOPATOLÓGICO  
DO CORAÇÃO DE GATOS COM CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA

JOÃO FRANCISCO CARVALHO LOPES

ORIENTADORA:

Doutora Rute Marina Garcia da Noiva

COORIENTADOR:

Dr. Rui Miguel de Oliveira Gomes Máximo

2024

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



HOW CRYSTAL CLEAR IS IT? - ESTUDO MORFOMÉTRICO E HISTOPATOLÓGICO  
DO CORAÇÃO DE GATOS COM CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA

JOÃO FRANCISCO CARVALHO LOPES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Graça Maria Alexandre Pires Lopes  
de Melo

ORIENTADORA:

Doutora Rute Marina Garcia da Noiva

VOGAIS:

Doutora Maria Constança Matias Ferreira  
Pomba

Doutora Rute Marina Garcia da Noiva

COORIENTADOR:

Dr. Rui Miguel de Oliveira Gomes Máximo

2024

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: João Francisco Carvalho Lopes

Título da Tese ou Dissertação: How Crystal Clear Is It? – Estudo Morfométrico e Histopatológico do Coração de Gatos com Cardiomiopatia Hipertrófica

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2024

Designação do curso de  
Mestrado ou de  
Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica  Produção Animal e Segurança Alimentar  
 Morfologia e Função  Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de  6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, \_\_\_29\_\_\_ de \_\_\_\_\_ maio \_\_\_\_\_ de 2024\_\_\_

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **Agradecimentos**

Desde que era “pequeno” que queria ser médico veterinário, ou como dizia aos 6 anos de idade, “médico dos animais”, sonho que perdurou durante todos os anos seguintes da minha vida até acabar o ensino secundário e entrar na FMV-ULisboa. Agradeço ao “eu criança” por ter mantido esse sonho vivo.

Agradeço à minha família pelo apoio, compreensão e presença ao longo do percurso académico. Sem ela, isto não seria possível.

Um enorme obrigado à Doutora Rute Noiva, por toda a paciência, empatia (e pela capacidade de perdoar os erros que fui cometendo pelo caminho de estagiário) e apoio que sempre demonstrou desde a primeira conversa que tive com ela, e que, tal como outros/as estudantes concordarão, faz sentir esperança de que há docentes e, acima disso, pessoas que estão cá para dar calma, clareza e coragem aos outros. Para além da doutora Rute, tenho de agradecer às técnicas do laboratório de Anatomia Patológica, a Sandra e a Beatriz, por toda a paciência e atenção em me auxiliar, realizar os procedimentos que pedia ou precisava e explicarem sempre as minhas dúvidas.

Agradeço também o Dr. Rui Máximo, por toda a disponibilidade em me aceitar como seu tutorando e me ter esclarecido sempre todas as dúvidas e me chamar a atenção para me manter objetivo e com os “pés assentes na terra” para evitar as minhas tendências para ser complicado. Nestes agradecimentos, um apreço especial à Professora Luísa Mateus e à Dra. Inês Machado por me terem permitido, nas horas vagas no horário de cada serviço em que estava escalonado, acompanhá-las no serviço de Reprodução do HEV (que engloba Ginecologia, Andrologia e Neonatologia).

Agradeço também à Professora Isabel Neto por toda a atenção, disponibilidade e dedicação em arranjar tempo em me auxiliar na escolha e interpretação de testes estatísticos. Não só nesta fase final do curso, as durante todo o percurso, a todos os/as estudantes que ajuda e tem ajudado, muito obrigado.

Não obstante, tenho a agradecer com todo o coração aos veterinários que me receberam de braços abertos para a realização de estágios extracurriculares, mais precisamente à Dra. Susana Vítor, ao Dr. Pedro Parreira e ao Dr. Luís Chambel, cujos ensinamentos e cuja simpatia me fizeram melhorar pessoalmente e profissionalmente e sentir-me à vontade nos ambientes de trabalho com cada um. Senti que uma das melhores partes deste 6º ano, o ano de Estágio Curricular, foi ter a liberdade horária para dedicar tempo a aprender com essas três pessoas excecionais, fora da FMV e HEV.

Tornaram o meu 6º ano muito mais rico! Muito obrigado a todos vós!

## **Financiamento**

Este estudo foi financiado pelo Centro de Investigação Interdisciplinar de Sanidade Animal (CIISA) e pelo Laboratório Associado de Ciências Animais e Veterinárias (AL4AnimalS): UIDB/00276/2020 e LA/P/0059/2020, bem como pela bolsa de Iniciação à Investigação acordada entre o CIISA e a Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), de referência CIISA/2023/2.

## **Resumo**

### **HOW CRYSTAL CLEAR IS IT? – ESTUDO MORFOMÉTRICO E HISTOPATOLÓGICO DO CORAÇÃO DE GATOS COM CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA**

A cardiomiopatia hipertrófica (HCM) é a cardiopatia mais frequente em gatos. O seu diagnóstico é predominantemente clínico, em vida, baseado no exame ecocardiográfico, seguindo-se o seu estadiamento de acordo com os restantes sinais clínicos e sintomas do animal. Em contrapartida, os critérios de diagnóstico pós-morte desta afeição não estão solidamente estabelecidos, sendo que muitos patologistas se baseiam no peso do coração e na avaliação macroscópica subjetiva e pessoal de alterações histopatológicas de tecido cardíaco.

Foram recolhidos corações de gatos necropsiados no Serviço de Anatomia Patológica da FMV-ULisboa (n=32). Estes foram divididos em grupo controlo e grupo doente/HCM, de acordo com o peso do coração. Seguidamente, procedeu-se à análise morfométrica macroscópica e à avaliação histopatológica de amostras de miocárdio. Foi realizada coloração imunohistoquímica para troponina I cardíaca (cTnI) e, finalmente, efetuou-se a medição da espessura dos cardiomiócitos.

Observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controlo e HCM na maior parte das variáveis morfométricas analisadas. No que diz respeito aos achados histopatológicos, a única diferença estatisticamente significativa foi no grau de fibrose da parede do ventrículo esquerdo. Além disso, a marcação imunohistoquímica para cTnI não detetou diferenças significativas entre tecido saudável e tecido lesionado. A espessura dos cardiomiócitos revelou diferenças significativas entre os dois grupos.

Em conclusão, este estudo resultou num conjunto de observações que permitem uma melhor e mais completa compreensão morfométrica e histopatológica da HCM em gatos. Mais estudos permitirão uma melhor e mais completa compreensão da patologia clínica e histopatologia da HCM felina.

Palavras-chave: Cardiomiopatia hipertrófica; Gato; Miocárdio; Morfometria; Histopatologia; Cardiomiócitos.

## **Abstract**

### HOW CRYSTAL CLEAR IS IT? – MORPHOMETRIC AND HISTOPATHOLOGICAL STUDY OF THE HEART OF CATS WITH HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is the most common heart disease in cats. Its diagnosis is predominantly clinical, in vivo, based on echocardiographic examination, followed by staging according to the animal's clinical signs and symptoms. In contrast, the postmortem diagnostic criteria of this condition are not solidly established, and, therefore, many pathologists rely on the weight of the heart and on the subjective assessment of histopathological changes of cardiac tissues samples.

Hearts were collected from cats presented for necropsy at the Pathological Anatomy Service of FMV-ULisboa (n=32) and divided into a control group and a sick/HCM group according to heart weight. Macroscopic morphometric evaluation of these hearts was then carried out, as well as histopathological analysis of myocardial samples. Immunohistochemical staining for cardiac troponin I (cTnI) was performed and, finally, the thickness of the cardiomyocytes was measured.

Statistically significant differences were observed between the control and HCM groups in most of the morphometric variables analyzed. With regard to histopathological findings, the only statistically significant difference was in the degree of fibrosis of the left ventricular wall, in one of the scenarios.

Furthermore, immunohistochemical staining for cTnI did not effectively detect differences between healthy and injured cardiac tissue. Regarding the determination of cardiomyocyte thickness, significant difference values were obtained between the two groups.

In conclusion, this study resulted in a set of observations that allow a better and more complete morphometric and histopathological understanding of HCM in cats. Further studies will allow for a better and more complete understanding of the clinical pathology and histopathology of feline HCM.

Keywords: Hypertrophic cardiomyopathy; Cat; Myocardium; Morphometry; Histopathology; Cardiomyocytes.

## Índice

Agradecimentos .....	iii
Financiamento .....	iv
Resumo .....	v
Abstract.....	vi
Índice de figuras.....	ix
Índice de tabelas.....	x
Índice de gráficos.....	xi
Índice de abreviaturas, símbolos e siglas.....	xii
1. Breve relatório de estágio na FMV-ULisboa e outros .....	1
1.1. Estágio curricular.....	1
1.1.1. Medicina Geral.....	2
1.1.2. Imagiologia (Radiografia, TC e Ecografia).....	2
1.1.3. Cardiologia.....	3
1.1.4. Cirurgia .....	3
1.1.5. Unidade de Contenção e Doenças Infecciosas (UCDI) .....	4
1.1.6. Centro do Peso Saudável e Animais Exóticos:.....	4
1.1.7. Laboratório de Anatomia Patológica.....	4
1.2. Estágios Extracurriculares .....	5
2. Revisão Bibliográfica.....	6
2.1. Breve descrição fisiológica e clínica do Aparelho Cardiovascular .....	6
2.1.2. Histologia .....	7
2.1.3. Mecanismos da função cardíaca .....	8
2.1.4. Mecanismos compensatórios .....	8
2.1.5. Patologia cardíaca .....	9
2.2. Cardiomiopatia Hipertrófica (HCM) em gatos sob o olhar clínico .....	11
2.2.1. HCM primária/idiopática .....	13
2.2.2. HCM secundária .....	13
2.2.3. Epidemiologia da HCM.....	14

2.2.4. Apresentação e Sinais Clínicos.....	14
2.2.5. Meios Complementares de Diagnóstico e Terapêutica (MCDT) .....	15
2.2.6. Classificação ACVIM.....	16
2.2.7. Prognóstico .....	18
2.3. Histopatologia da Cardiomiopatia Hipertrófica (HCM) em gatos .....	19
2.3.1. Hipertrofia miocárdica .....	19
2.3.2. Degenerescência celular e aparência histopatológica .....	20
2.4. Visão comparativa e translacional gato-humano.....	22
3. Materiais e Métodos.....	23
3.1. Objetivos .....	23
3.2. Seleção de elementos amostrais e tipo de estudo estatístico .....	24
3.2.1 Amostras populacionais .....	24
3.3. Obtenção de corações em necrópsia .....	26
3.4. Processamento laboratorial e histopatológico das amostras.....	26
3.5. Padronização de espessura de cardiomiócitos .....	29
3.6. Análise de dados .....	29
4. Resultados .....	31
4.1. Parâmetros morfométricos medidos “post mortem” .....	31
4.2. Comparação entre parâmetros morfométricos em vida (ecográficos) e post mortem (medição direta):.....	32
4.3. Parâmetros e achados histopatológicos “post mortem” .....	34
4.3.1. Troponina cardíaca I .....	37
4.4. Espessura dos cardiomiócitos .....	39
5. Discussão .....	39
6. Conclusão .....	44
7. Bibliografia .....	45
8. Anexos.....	51

## **Índice de figuras**

Figura 1: Esquema da estrutura do coração .....	6
Figura 2: Ilustração das várias causas e consequências dos mecanismos compensatórios cardiovasculares.....	11
Figura 3: Ilustração de corações de gato com diferente morfologia.....	13
Figura 4: Medição do dAo .....	27
Figura 5: Medição do diAE .....	27
Figura 6: Medição do eSIV.....	27
Figura 7: Medição do ePLVE .....	27
Figura 8: Medição do diVE .....	28
Figura 9: Medição da espessura dos cardiomiócitos.....	30
Figura 10: Observação de miocárdio com marcação imunohistoquímica para cTnI, ampliação de 20x, no grupo controlo.....	37
Figura 11: Observação de miocárdio com marcação imunohistoquímica para cTnI, ampliação de 20x, no grupo HCM .....	37
Figura 12: Observação de miocárdio com marcação imunohistoquímica para cTnI numa amostra do grupo controlo, ampliação de 40x .....	38
Figura 13: Observação de miocárdio com marcação imunohistoquímica local diminuída para cTnI numa amostra do grupo HCM, ampliação de 40x.....	38

## Índice de tabelas

Tabela 1: Valores ecocardiográficos de referência para gato, em 2D .....	17
Tabela 2: Classificação de estadio de cardiomiopatia hipertrófica segundo consenso ACVIM 2020.....	19
Tabela 3: Valores ecocardiográficos de referência para gato, em 2D .....	24
Tabela 4: Tabela descritiva dos valores e designações de graus de alterações histopatológicas.....	30
Tabela 5: Parâmetros morfométricos do grupo controlo e do grupo HCM, no cenário 1.....	31
Tabela 6: Parâmetros morfométricos do grupo controlo e do grupo HCM, no cenário 2.....	32
Tabela 7: Parâmetros morfométricos do grupo “in vivo” .....	33
Tabela 8: Parâmetros morfométricos do grupo “in vivo” e do grupo “post mortem” ...	33
Tabela 9: Variâncias dos parâmetros morfométricos do grupo “in vivo” e do grupo “post mortem” .....	34
Tabela 10: Média das ordinais histopatológicas segundo o teste “Mann Whitney-U”, no cenário 1 .....	35
Tabela 11: Média das ordinais histopatológicas segundo o teste “Mann Whitney-U”, no cenário 2 .....	36
Tabela 12: Valores de melhor “compromisso” entre sensibilidade e especificidade obtida em curva ROC, para as várias regiões .....	39

## **Índice de gráficos**

Gráfico 1: Horas despendidas em cada serviço ou atividade curricular.....	1
Gráfico 2: Horas despendidas em cada serviço ou atividade extracurricular.....	5

## **Índice de abreviaturas, símbolos e siglas**

HEV- Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da  
Universidade de Lisboa

TC- Tomografia Computorizada

SNA- Sistema Nervoso Autónomo

SA- Sinoatrial

AV- Atrioventricular

RAA- Renina-Angiotensina-Aldosterona

FC- Frequência Cardíaca

PA- Pressão Arterial

HAS- Hipertensão arterial sistémica

HCM- Cardiomiopatia Hipertrófica (“Hypertrophic Cardiomyopathy”)

IC- Insuficiência Cardíaca

ICC- Insuficiência Cardíaca Congestiva

TEAF- Tromboembolismo Arterial Felino

ECA- Enzima Conversora da Angiotensina

IECA- Inibidor da Enzima Conversora da Angiotensina

cTnI- Troponina cardíaca I

MCDT- Meios Complementares de Diagnóstico e Terapêutica

VE- Ventrículo Esquerdo

VD- Ventrículo Direito

SIV- Septo Interventricular

ePLVE- espessura da Parede Livre do Ventrículo Esquerdo

ePLVD- espessura da Parede Livre do Ventrículo Direito

eSIV- espessura do Septo Interventricular

diVE- Diâmetro Interno do Ventrículo Esquerdo

dAE- Diâmetro do Átrio Esquerdo

dAo- Diâmetro da Aorta

HE- Hematoxilina-eosina

TM- Tricrómio de Masson

$\rho$  – valor estatístico de  $p$

DP- Desvio padrão

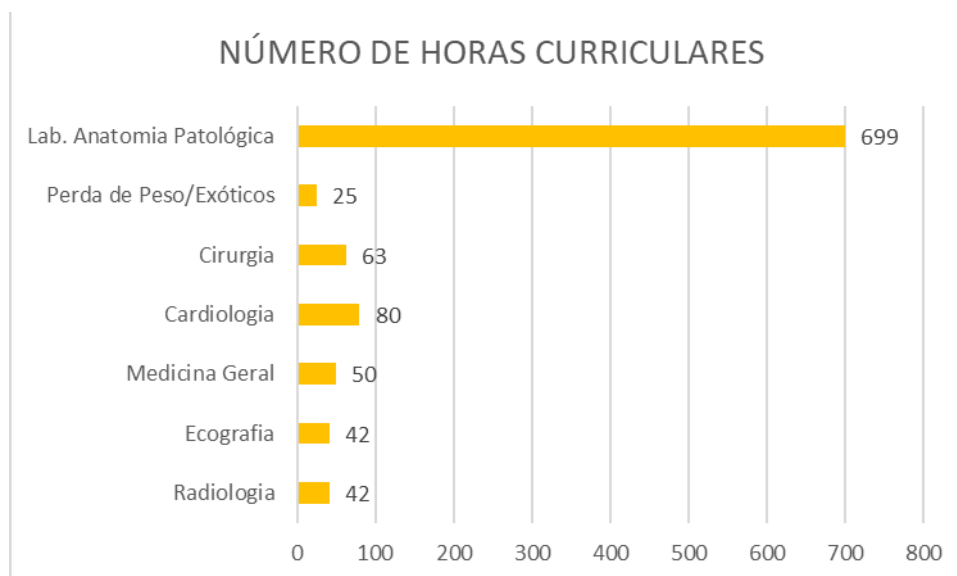
## 1. Breve relatório de estágio na FMV-ULisboa e outros

A dissertação aqui apresentada teve como base o trabalho desenvolvido ao longo de seis meses (de 1 de março a 31 de agosto de 2023) na FMV-ULisboa, com horários alternados entre o Hospital Escolar Veterinário (HEV) e o Laboratório de Anatomia Patológica da FMV-ULisboa. A orientação neste estágio foi fornecida pela professora Doutora Rute Marina Garcia da Noiva, como orientadora de estágio e fonte de conhecimento e de validação de dados e desenvolvimentos na matéria de Anatomia Patológica, e pelo Dr. Rui Miguel de Oliveira Gomes Máximo, como tutor de estágio e fonte de conhecimento e de validação de dados e desenvolvimentos na parte clínica. No total, o estágio curricular em causa correspondeu a um número total de 1001 horas, em seis meses.

Além disso, foram realizados, ao longo desse período, estágios extracurriculares para ter contacto com diferentes logísticas de trabalho, perspetivas da área de veterinária e contacto com a área clínica mais frequentemente. Mais adiante, encontram-se mais pormenores acerca desses estágios e os benefícios neles sentidos pelo mestrando.

### 1.1. Estágio curricular

**Gráfico 1: Horas despendidas em cada serviço ou atividade curricular.**



### **1.1.1. Medicina Geral**

No serviço de Medicina Geral do HEV, as consultas registadas são por marcação prévia ou em regime de Urgência após triagem por enfermeiro/a responsável no horário respetivo. Nesse serviço, o mestrando teve a oportunidade de acompanhar uma variedade de casos clínicos, desde consultas preventivas (e.g., vacinação e/ou desparasitação), a situações de doença grave, crónica ou aguda, que exigiram a elaboração de uma anamnese completa, lista de diagnósticos diferenciais, realização de meios complementares de diagnóstico como radiografia, tomografia computadorizada (TC), análises clínicas, entre outros, estabilização clínica, diagnóstico e encaminhamento apropriado para colegas de especialidade médica, como Medicina Interna, Ortopedia, Cardiologia ou Neurologia.

### **1.1.2. Imagiologia (Radiografia, TC e Ecografia)**

Na prática clínica corrente e para a avaliação em seguimento de um caso clínico, exames imagiológicos como raio- X, tomografia computadorizada (TC) e ecografia são essenciais para o correto desempenho médico-veterinário. Foi o que o estagiário mais aprendeu durante as semanas de estágio nesses serviços do HEV.

No serviço de Radiografia, o estagiário observou e participou em diferentes fases do processo de obtenção de imagem radiográfica, nomeadamente a preparação do animal a examinar, a sua sedação e monitorização da sedação/anestesia, o acondicionamento e posicionamento do mesmo em marquesa, colimação do feixe e seleção das constantes radiográficas e observação e constatação do conteúdo da imagem. Durante os procedimentos de TC, as fases de obtenção de imagem eram muito semelhantes, tirando a colimação do feixe, já que os feixes de radiação ionizante são emitidos de forma pulsátil e móvel, levando a um processamento técnico e informático diferentes.

No serviço de Ecografia, o mesmo pôde aprender sobre a interpretação de imagens ecográficas, valores de medição de referência de diferentes órgãos e como a Ecografia é um exame muito rápido e útil em contexto de acompanhamento de casos clínicos, mais precisamente no que diz respeito à sua evolução.

### **1.1.3. Cardiologia**

O serviço de Cardiologia foi o serviço frequentado durante mais tempo neste estágio curricular. Durante as semanas de estágio em Cardiologia, o estagiário pôde presenciar e notar os procedimentos padrão de ecocardiografia e os passos mais particulares para algumas suspeitas clínicas, bem como as abordagens clínicas mais adequadas às cardiopatias mais frequentes em animais de companhia, no que diz respeito à terapêutica farmacológica, à vigilância necessária em casa pelos titulares, à interpretação dos sintomas descritos pelos mesmos nessa vigilância, e ao prognóstico das várias doenças cardíacas. Desta forma, o mesmo pôde aprender a importância dos diversos parâmetros de ecocardiografia, os seus valores de referência e o significado dos desvios em relação a esses valores e a fisiopatologia de diversas cardiopatias em diferentes animais, tendo em conta também o seu estado de saúde geral e a presença ou ausência de doenças concomitantes e de terapêuticas relacionadas a essas mesmas.

### **1.1.4. Cirurgia**

Durante o tempo de estágio no serviço de Cirurgia, o estagiário teve a oportunidade de apreender e participar na receção dos pacientes, no referente à obtenção de informação prévia relevante com titulares, a preparação pré cirúrgica, que compreende desde a avaliação dos sintomas e sinais clínicos (como frequências cardíaca e respiratória, estado de hidratação, entre outros) até ao tipo de sedação e indução anestésica, com a sua devida monitorização.

Nos períodos intra cirúrgicos, este acompanhou cirurgias de vários tipos, como cirurgias eletivas como orquiectomias e ovariohisterectomia (vulgo cirurgias de esterilização), até cirurgias de maior urgência, como laparotomias, laparoscopias, para remoção de tumores, e cirurgias ortopédicas para resolução de lesões traumáticas. Nesse mesmo período, o estagiário aprendeu os cuidados intraoperatórios necessários, como a manutenção apropriada de anestesia e controlo de dor para cada paciente, a leitura e interpretação de gasometria, pulsimetria e eletrocardiografia, e, finalmente, pôde ter a experiência enriquecedora de acompanhar e auxiliar (dentro do permitido pelo/a médico/a responsável) nas intervenções cirúrgicas, como suporte de material cirúrgico, execução de suturas e mobilização de estruturas.

Nos períodos pós cirúrgicos, o orientando seguiu a monitorização pós-operatória dos pacientes submetidos, aprendeu os sintomas e sinais a considerar na recuperação anestésica e a comunicação ideal e profissional a ter com titulares para o “follow up” dos

seus animais.

### **1.1.5. Unidade de Contenção e Doenças Infecciosas (UCDI)**

Durante o período de estágio no serviço da UCDI, o estagiário acompanhou 5 casos de Doenças Infecciosas Felinas, como Imunodeficiência Viral Felina, Leucemia Viral Felina, Peritonite Infecciosa Felina e Doenças de Trato Respiratório Superior Felino. Também teve a oportunidade de treinar a recolha de materiais biológicos, como corrimentos nasais, retais e sangue desses animais, sendo que na recolha de sangue, para além dos animais estarem prostrados ou calmos no ambiente da UCDI, as suas veias apresentavam vasoconstrição aumentada devido ao estado de doença, e daí haver maior dificuldade na sua obtenção, mas que permitiu um reforço de treino em venopunção.

### **1.1.6. Centro do Peso Saudável e Animais Exóticos:**

O serviço do Centro do Peso Saudável e o de Animais Exóticos foram serviços em que o estagiário tentou estar presente nos dois serviços, de forma alternada, em cada dia.

Nesses serviços, respetivamente, pôde aprender a abordagem comunicativa a desempenhar no apelo à cooperação dos titulares no seguimento e respeito de um plano alimentar equilibrado e necessário a cada animal de acordo com o seu estado de saúde geral ou doenças concomitantes, e a abordagem a ter perante animais exóticos (também chamados de “novos animais de companhia”) e as técnicas de contenção e obtenção de amostras de fluidos mais indicadas, assim como a administração de fármacos para cada espécie exótica.

### **1.1.7. Laboratório de Anatomia Patológica**

Externamente ao trabalho realizado em contexto hospitalar no HEV, nos seis meses de Estágio Curricular, o mestrando também desenvolveu trabalho no laboratório de Anatomia Patológica da FMV. No âmbito do serviço deste laboratório, o mesmo assistiu e auxiliou nas aulas práticas de necrópsias da Unidade Curricular “Anatomia Patológica II”, estando presente para esclarecer as dúvidas dos/as estudantes, auxiliar na realização das necrópsias solicitadas pela docente e onde recolheu as suas amostras para o trabalho de investigação.

Dentro do trabalho laboratorial em si, nas instalações internas, o estagiário aprendeu acerca de histoquímica convencional, imunohistoquímica e citoquímica. Por conseguinte, este acompanhou e participou em algumas das rotinas de laboratório, tais

como a preparação e seleção de reagentes e corantes para colorações como Hematoxilina-Eosina (HE), Tricrómio de Masson (TM) e Imunohistoquímica. Também teve a chance de observar e apreender conhecimentos acerca da avaliação citológica de amostras provenientes do HEV-FMV. Este período em laboratório também o levou a estudar e consolidar saberes de histopatologia e de investigação científica.

## 1.2. Estágios Extracurriculares

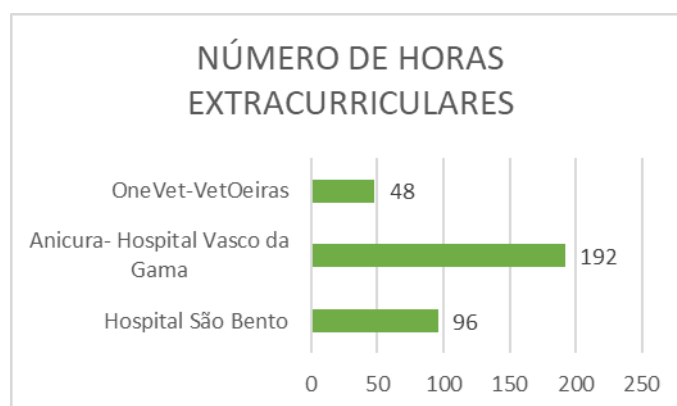
Adicionalmente ao estágio curricular, o estudante realizou 336 horas de estágio extracurricular, incluindo:

Uma a duas vezes por semana ao longo de quase quatro meses, desde 4 de abril a 20 de junho de 2023, no Hospital Veterinário de São Bento, acompanhando o Dr. Pedro Parreira no serviço de Cardiologia desse hospital e no serviço de Internamento.

Aos fins de semana, no Anicura - Hospital Vasco da Gama, onde o mesmo acompanhou os serviços de Medicina Geral e de Cardiologia, desde 3 de abril a 25 de junho de 2023, e onde pôde praticar as recolhas de sangue e outras amostras biológicas e a utilização dos equipamentos desse hospital, como os aparelhos de análises sanguíneas e de radiografia.

Pontualmente, às quartas-feiras de manhã, na Onevet- VetOeiras acompanhou o quotidiano e o trabalho da equipa de Cirurgia e de Ortopedia, acompanhando o Dr. Luís Chambel. Neste estágio pontual, foram aplicados os conceitos teóricos de preparação cirúrgica, assepsia e de anestesia.

**Gráfico 2: Horas despendidas em cada serviço ou atividade extracurricular.**

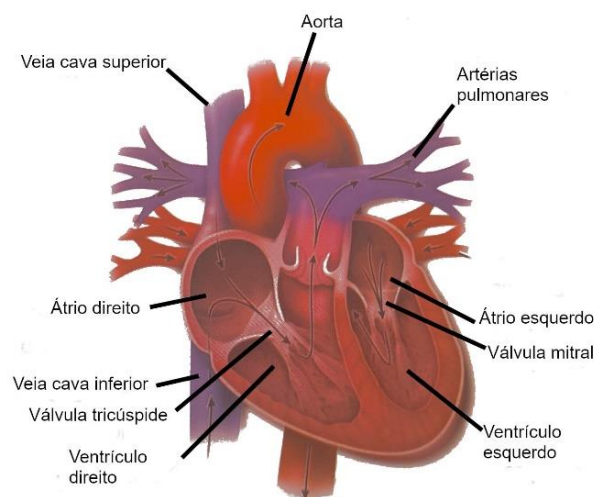


## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Breve descrição fisiológica e clínica do Aparelho Cardiovascular

O coração desempenha a função vital de distribuir eficazmente sangue pelo corpo de um animal, de forma a fornecer oxigênio e nutrientes a todas as células do mesmo e a retirar destas os produtos de metabolismo. Para tal, o coração dispõe de um conjunto de compartimentos orgânicos, mecânicos e ativos, como os átrios (esquerdo e direito) - que recebem o sangue proveniente da circulação sistêmica venosa ou da circulação pulmonar após a sua oxigenação - e os ventrículos (esquerdo e direito) - que impulsionam o sangue através de movimentos cíclicos de contração (sístole) e de relaxamento, com enchimento (diástole). Para assegurar que o fluxo de sangue intracardíaco ocorre numa direção única, entre os átrios e os ventrículos, existem as válvulas atrioventriculares direita (tricúspide) - entre o átrio e o ventrículo direitos – e esquerda (bicúspide ou mitral) - existente entre o átrio e ventrículo esquerdos. Deste modo, é crucial que o coração se mantenha íntegro e funcional durante toda a vida do animal, para sustentar o bom funcionamento dos restantes tecidos e órgãos. (R. Stephenson 2012a).

Perante uma situação patológica do aparelho cardiovascular, qualquer atividade fisiológica de outros órgãos fica comprometida, potencialmente comprometendo a sobrevivência do animal. Neste sentido, é essencial entender os mecanismos de funcionamento normal do coração, bem como o que ocorre durante a patogénese de lesões e doenças cardíacas para haver interferência nesses primeiros mecanismos. (Berne and Levy 1997; Hamlin 2000; R. Stephenson 2012)



**Figura 1: Esquema da estrutura do coração. Adaptado de Ross et al (2016).**

### 2.1.2. Histologia

Histologicamente, o coração apresenta uma estrutura complexa de cardiomiócitos, tecido conjuntivo com componentes fibrosas e elásticas, e neurónios de Sistema Nervoso Autónomo (SNA).

Os cardiomiócitos são células musculares, mononucleadas e de formato cilíndrico que, tal como as células musculares esqueléticas, têm aspeto estriado devido à alternância entre bandas mais claras, bandas I, e bandas mais escuras, bandas A, sendo essas últimas a zona de união das proteínas actina e miosina que, com envolvimento de canais de recetores de cálcio nele localizados, levam à contração celular muscular. A estimulação e a inibição dessa contração muscular é devida também às proteínas troponina cardíaca C e troponina cardíaca I, que têm a função de, respetivamente, estimular a libertação da troponina cardíaca I no citoplasma e dissociar as ligações de actina e miosina para reverter a contração muscular.

Além do mais, este órgão é composto por três camadas distintas, da mais interna para a mais externa: endocárdio, miocárdio e pericárdio. O endocárdio consiste numa única camada de células endoteliais que reveste as câmaras do coração. Ocasionalmente, pequenas quantidades de músculo liso também podem ser observadas no endocárdio. Imediatamente abaixo no endocárdio, na transição para o miocárdio, existem fibras de colagénio e elastina de tecido conjuntivo laxo, microvasos e, especialmente, neurónios. O miocárdio é a porção do coração com maior relevância no seu desempenho, sendo composto maioritariamente pelos cardiomiócitos e neurónios ativos do SNA e quantidades moderadas ou baixas de tecido conjuntivo rico em elastina (Layland et al. 2005; Young et al. 2013; Abrahamsohn 2017).

Os cardiomiócitos, no miocárdio, estão “ancorados” entre si por discos intercalares, compostos por “gap junctions”, que permitem justaposição e comunicação constante entre as células, e canais de sódio dependentes de voltagem, para propagação de impulso elétrico. O pericárdio constitui um saco de tecido conjuntivo elástico, subdividido em folheto visceral/epicárdio, que está em contacto mais próximo com o miocárdio, e folheto parietal, que compõe a parede externa do saco pericárdico. O conjunto destes dois folhetos compõe o saco pericárdico, que alberga o coração com uma escassa quantidade de líquido no seu interior, o líquido pericárdico, que é essencial para a mobilidade do coração durante as fases de sístole e diástole, pois diminui a resistência ou atrito a que este órgão é sujeito nos seus movimentos associados a essas fases (Layland et al. 2005; Young et al. 2013; Abrahamsohn 2017; Arackal and Alsayouri 2023).

### **2.1.3. Mecanismos da função cardíaca**

Para uma boa função cardíaca, é necessário que haja eficazmente mecanismos intrínsecos ao coração para bombear e distribuir o sangue corretamente pelo organismo. Deste modo, temos a capacidade de conduzir impulso elétrico desencadeador de contração cardíaca (condutividade/dromotropismo), a capacidade das células musculares serem excitadas por gradientes elétricos apropriados (excitabilidade/batmotropismo), a capacidade contrátil muscular (contratilidade/inotropismo), a capacidade de manter um ritmo regular e coordenado (ritmicidade/cronotropismo) e a capacidade de (ativamente) relaxar de forma a permitir novo enchimento das câmaras cardíacas e preparação para nova contração (complacência/lusitropismo) (Engelmann 1897; Smith and Katz 1983; Furukawa et al. 1990; Monti et al. 1992; Marston and Pinto 2023).

A contração cardíaca inicia-se no nó sinoatrial (nó SA), um centro diferenciado de células musculares e nervosas que geram o estímulo elétrico inicial para o ciclo cardíaco. A partir deste nó, pelos feixes nervosos de His, o estímulo elétrico é orientado no sentido dos átrios para os ventrículos, alcançando outro centro diferenciado, o nó atrioventricular (nó AV). O nó AV desencadeia novo impulso elétrico com “delay” de 50 a 150 milissegundos em relação à contração atrial, propagado através dos ramos direito e esquerdo de His, que depois se subdividem nas fibras de Purkinje, células nervosas inseridas no interior do miocárdio dos ventrículos e que distribuem o potencial de ação despolarizante pelos cardiomiócitos à sua volta (R. Stephenson 2012a; R.B. Stephenson 2012; Ross and Pawlina 2016).

### **2.1.4. Mecanismos compensatórios**

A partir do momento que ocorrem lesões a nível cardíaco, o organismo ativa mecanismos compensatórios, que visam o suporte eficaz a curto prazo para assegurar as suas funções e atividade cardíacas normais. Entre os mecanismos estudados, há a salientar o sistema nervoso autónomo (SNA) e o sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAA) (Stephenson 2012).

O SNA, por ação de neurotransmissores inotrópicos e cronotrópicos positivos, leva ao aumento da força e da frequência de contração do miocárdio. Isto acontece, porque a epinefrina e norepinefrina se ligam aos recetores  $\beta$ -1 das células do miocárdio, levando a aumento da pressão arterial (PA) e da frequência cardíaca (FC); esses mesmos transmissores levam a vasoconstrição por ligação aos recetores  $\alpha$ -1 dos vasos sanguíneos. Por seu lado, no sistema RAA, a hormona renina é produzida pela mácula densa nos rins em situações de hipovolémia, hipoperfusão ou hipotensão, resultando a transformação do angiotensinogénio

em angiotensina I, seguidamente transformada em angiotensina II pela enzima conversora da angiotensina (ECA) ao nível vascular capilar, resultando em vasoconstrição, que eleva a PA. A angiotensina II também estimula a libertação de aldosterona, que desencadeia a retenção de sódio junto ao tubo contornado distal de cada nefrónio e a excreção de potássio, o que, por osmose, leva a aumento da volémia, que é um fator promotor do aumento da PA (Stephenson 2012; R. Stephenson 2012b; R. Stephenson 2012c; R. Stephenson 2012a; Oyama et al. 2017).

Adicionalmente, a angiotensina II também estimula (ainda mais) a atividade do SNA, adicionando, nesta atividade, a libertação de vasopressina/ADH, que diminui a excreção de água pela urina nos nefrónios e causa vasoconstrição. Deste modo, no seu todo, o sistema RAA aumenta a volémia e a pressão arterial sistémica (Furukawa et al. 1990; R. Stephenson 2012; R. Stephenson 2012b; R. Stephenson 2012c; R. Stephenson 2012a; Oyama et al. 2017; Ettinger and Feldman).

### **2.1.5. Patologia cardíaca**

Decorrente de todo o esforço contínuo e incessante que o coração desempenha, devido a fatores intrínsecos ou extrínsecos ao aparelho cardiovascular, inúmeras agressões, macroscópicas e/ou microscópicas, podem levar a alterações e sequelas para o funcionamento fisiológico do coração, de gravidade variável. Estas alterações anómalas normalmente resultam quando os mecanismos compensatórios deixam de ser “úteis” e passam a ser nefastos, no médio a longo prazo, por recorrente esforço mecânico, neuro-hormonal e celular a que o coração, mais precisamente o miocárdio, é sujeito. Por conseguinte, ocorrem gradualmente, e de forma cumulativa, lesões de fibrose, arteriosclerose (fibrose das artérias de maior calibre) e remodelação cardíaca com alteração de funções bioquímicas celulares, como o funcionamento de canais de cálcio, a produção de energia, a condução de sinal elétrico. Desta forma, estamos perante um processo inapropriado de adaptação ao incremento de “stress” ou esforço cardiovascular e ocorre o que se denomina frequentemente de disfunção sistólica (em que a fração de ejeção, isto é, a quantidade do volume total que existe nos ventrículos e que é ejetado para as circulações correspondentes, está reduzida), pois há diminuição do inotropismo, e de disfunção diastólica (em que a fração de ejeção está preservada, isto é, a fração mantém-se, embora o valor absoluto desse volume esteja reduzido), pois há uma diminuição do lusitropismo. Em suma, existe diminuição da distribuição e retorno de sangue das circulações sistémica e pulmonar (Luis Fuentes et al. 2016; Luis Fuentes et al. 2020).

Entre as afeções cardíacas mais características dos animais de companhia, existe a Cardiomiopatia Dilatada, a Doença Mixomatosa da Válvula mitral, em cães, e a

Cardiomiopatia Hipertrófica, em gatos. Com o estabelecimento da cardiomiopatia, todos os mecanismos anteriormente referidos estão envolvidos sinergicamente na progressão da afeção existente, podendo progredir para insuficiência cardíaca, com prognóstico desfavorável/reservado (Luis Fuentes et al. 2016).

Quando os mecanismos compensatórios não conseguem colmatar as alterações cardiovasculares que os despoletam e/ou estes mecanismos ocorrem cronicamente, temos sinais de remodelação morfológica e funcional, levando a Insuficiência Cardíaca (IC), mais frequentemente de natureza congestiva. Neste cenário, apesar dos esforços do corpo do animal para manter a homeostasia, a distribuição e recolha de sangue dos vários órgãos não se efetua apropriadamente, resultando em falha de oxigenação e nutrição dos diferentes compartimentos orgânicos, bem como remoção dos seus metabolitos (Luis Fuentes et al. 2016).

Perante uma Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC), a apresentação clínica é usualmente de dispneia, intolerância ao exercício físico, hiporrexia ou anorexia, e acumulação de líquido nas cavidades corporais, como a cavidade torácica e a cavidade abdominal, descrevendo-se esses casos, respetivamente, por derrame pleural e ascite. Essa acumulação de líquido ocorre em estadio avançado de ICC, em que a pressão capilar e venosa da circulação em causa (pulmonar ou sistémica) ultrapassa pressão plasmática oncótica do espaço inter- e intracelular. A progressão para este estado patológico e quadro clínico, inclui várias alterações estruturais no coração, como a arteriosclerose, fibrose, “desorganização” das fibras musculares cardíacas e inflamação generalizada ou localizada no coração (Oyama 2016).

Para melhor consciencialização da gravidade da ICC nos animais, a “International Small Animal Cardiac Health Council” (ISACHC) criou o algoritmo do estadiamento da ICC felina (Finn et al. 2010; Luis Fuentes et al. 2020). Há três classes principais neste sistema, dependendo se o paciente é sintomático ou não. A ICC é classificada como assintomática (Classe I), ICC leve a moderada (Classe II) ou; ICC grave (Classe III). A subclassificação é baseada na existência de evidência de remodelação cardíaca à ecocardiografia (que diferencia as classes Ia e Ib), ou até que ponto os sinais clínicos afetam a qualidade de vida do doente e se a gestão domiciliária é suficiente (classe IIIa) ou se é necessária estabilização hospitalar (classe IIIb) (Fox 1999; Finn et al. 2010).

Em suma, existe um conjunto de fenómenos inflamatórios, neuro-hormonais e de remodelação miocárdica que culminam na insuficiência cardíaca e, por conseguinte, multiorgânica.

Neste último evento, a insuficiência multiorgânica, está-se perante uma emergência médica que necessita de intervenção atempada e assertiva para, no mínimo, estabilizar o animal. Essa estabilização envolve inevitavelmente intervenção farmacológica, na qual se

incluem diuréticos de efeito rápido e potência elevada, como furosemida - e torasemida segundo alguns autores -, adrenalina, dobutamina ou dopamina; e intervenções mais invasivas como toracocentese ou abdominocentese para retirar líquido das cavidades torácica ou abdominal. Adicionalmente, oxigenoterapia e fluidoterapia podem ser utilizadas como terapêuticas de suporte à estabilização (Ferasin and Defrancesco 2015; Fox and Schober 2015; James et al. 2018; Novo Matos et al. 2018; Luis Fuentes et al. 2020).

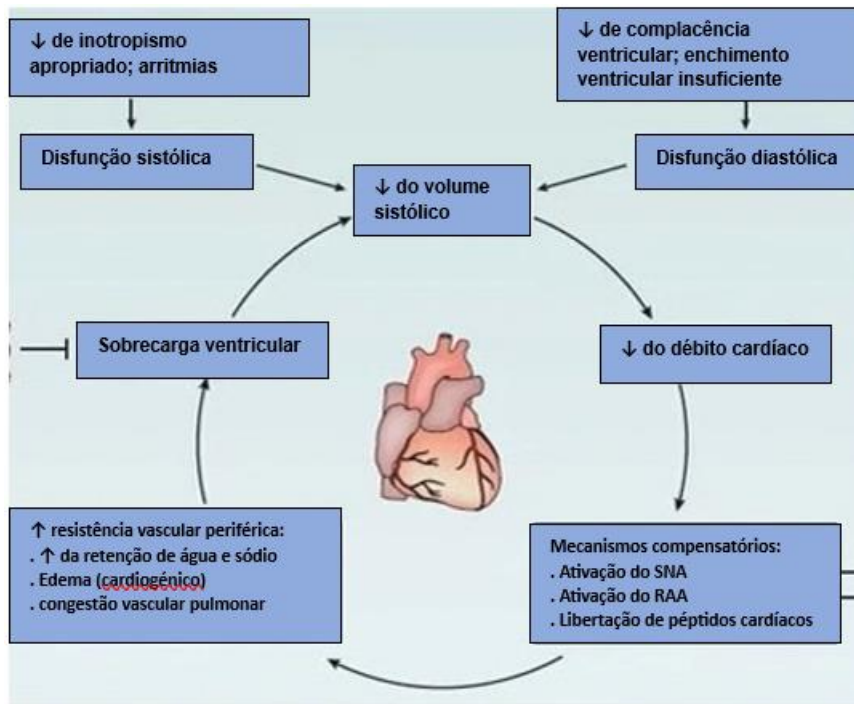


Figura 2: Ilustração das várias causas e consequências dos mecanismos compensatórios cardiovasculares. Adaptado de: <https://www.news-medical.net/whitepaper/20190909/Heart-Failure-Cardiovascular-Research.aspx>, acessado a 17/07/2023.

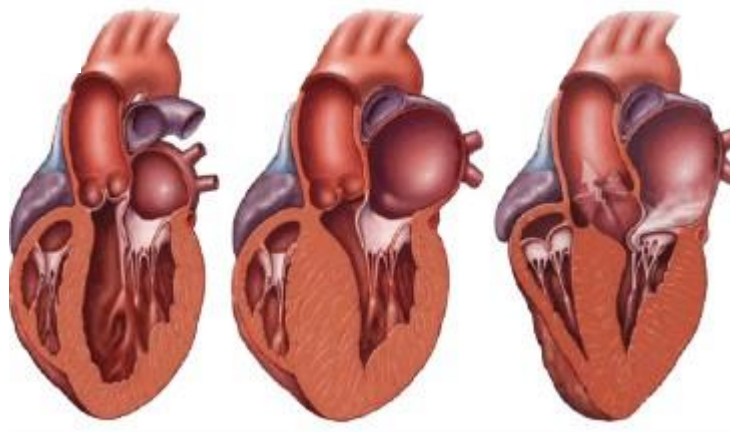
## 2.2. Cardiomiopatia Hipertrófica (HCM) em gatos sob o olhar clínico

A HCM é a doença cardíaca mais comum em *Felis catus* (gatos), em que há aumento da espessura do miocárdio, por hipertrofia dos cardiomiócitos e/ou aumento do espaço intersticial (ocupado por tecido conjuntivo fibroso, por exemplo), com consequente diminuição da complacência cardíaca e lesões miocárdicas progressivas. A causa desta doença é multifatorial, no sentido em que pode ter causa genética, denominada de primária, bem como metabólica ou hematológica - como hipertireoidismo ou anemia crônica, respetivamente -, denominada de secundária. Em todo o caso, as primeiras lesões que normalmente acontecem são as microscópicas, como o aumento do tamanho dos cardiomiócitos, gerando uma

hipertrofia concêntrica do coração (Biasato et al. 2015; Wilkie et al. 2015; Luis Fuentes et al. 2020; Belerenian et al. 2021).

Por existir tanta variabilidade de causas e fenômenos fisiopatológicos inerentes a cada caso de Cardiomiopatia Hipertrófica, em vez de a HCM ser considerada por si só uma doença específica, está dado como aceite o conceito de fenótipo de HCM. Deste modo, a HCM engloba não só um só processo fisiopatológico, mas sim um conjunto de características físicas observáveis, que, a seu tempo, conduzem às alterações morfológicas supramencionadas. A descrição da HCM em primária (ou idiopática) e em secundária permite uma análise mais pormenorizada da HCM em relação às suas causas e etapas de desenvolvimento. Em ambas as naturezas da HCM, primária ou secundária, a longo prazo, observam-se microlesões musculares progressivas, secundárias a contração excessiva e contínua do miocárdio e ao gasto de energia associado - que o fornecimento de oxigênio pode não sustentar -, assim como ao aumento de tensão ou compressão das artérias coronárias e suas ramificações. Essas microlesões podem traduzir-se, assim, na desintegração e rotura de membrana citoplasmática, que levam a liberação de biomarcadores como a Troponina cardíaca I (cTnI), uma molécula utilizada para diagnóstico de exclusão para HCM ou lesão cardíaca perante quadros cardiorrespiratórios. Posteriormente, essas microlesões podem desenvolver-se para macrolesões, havendo fibrose e perda de função, tipicamente chamadas de disfunção sistólica e de disfunção diastólica (Kittleson and Côté 2021).

Ao progredir para estadios mais avançados com disfunção sistólica e/ou diastólica, a doença gera IC e ICC, com todas as consequências que advêm desta doença clínica grave.



**Figura 3: Ilustração de corações de gato com diferente morfologia. Coração normal (A); coração com cardiomiopatia hipertrófica (B e C), na variante difusa simétrica (B) e na variante difusa assimétrica (C). Adaptado de: <https://www.cvcavets.com/hypertrophic-cardiomyopathy-in-cats/>**

### **2.2.1. HCM primária/idiopática**

A HCM de natureza primária caracteriza-se, essencialmente, por uma reação ou evolução idiopática do aparelho cardiovascular, em que há espessamento do músculo cardíaco sem uma causa prévia aparente que justifique tal evolução orgânica do coração. Não existe, na HCM idiopática, uma causa congénita estrutural, metabólica ou hemodinâmica, sendo na maioria das vezes causada por mutações genéticas, evidenciada pela prevalência aumentada em algumas raças de gatos. Para a HCM idiopática, foram identificadas as mutações MyBCP3-A31P e MyBCP3-R820W para, respetivamente, indivíduos das raças Maine Coon e Ragdoll, que originam alterações patológicas da proteína C ligante à miosina, tal como ocorre em algumas das mutações nos seres humanos que desenvolvem HCM primária (Bonagura 2016).

Para além das raças referidas, também se denotou a prevalência excepcional de HCM idiopática em Persa, Bengal, “American Short Hair” e “Brittish Short Hair” e Bosques da Noruega, nas quais se suspeita, haverem causas genéticas, mas ainda sem conclusões definitivas sobre quais são as mutações (Trehou-Sechi et al. 2012; März et al. 2015; Bonagura 2016).

### **2.2.2. HCM secundária**

A HCM de natureza secundária é uma cardiopatia que se desenvolve a partir de processos patológicos sistémicos, que levam a um aumento crónico do esforço cardiovascular para impulsionar o sangue para, normalmente, a circulação sistémica, o que leva a hipertrofia da massa muscular do ventrículo esquerdo, como a hipertensão arterial sistémica (HAS), hipertiroidismo, anemia crónica, acromegália, ou processos infiltrativos neoplásicos do miocárdio, como um linfoma ou outra neoplasia com distrofia muscular, apesar de serem muito raros. O uso inadequado de corticosteróides e doxiciclina também tem sido registado como causas potenciais de HCM secundária. (Ferasin, 2009; Chetboul et al, 2006; Chetboul et al, 2006; Glaus & Wess, 2010).

Em todo o caso, a evolução da HCM para um estadió de IC pode ocorrer com se a causa sistémica original não for detetada e corrigida apropriadamente. Deste modo, o desenrolar dos processos fisiopatológicos de HCM podem ocorrer de forma similar do que ocorre na HCM idiopática(Bonagura 2016).

### **2.2.3. Epidemiologia da HCM**

A HCM é a cardiopatia mais prevalente no gato, sendo que existem raças mais predispostas e a sua estatística de presença a nível mundial é variada, de acordo com a prevalência dessas raças predispostas em certas zonas do planeta e de acordo com a facilidade de esses animais serem examinados clinicamente. Apesar destes fatores desviantes de uma realidade exata, estima-se que a prevalência de HCM em gatos domésticos é de cerca de 15% (Teixeira 2023).

Apesar de a predisposição racial em gatos estar conceptualizada, talvez devido ao facto de haver mais gatos sem raça definida (em inglês, classificados como “Domestic Short Hair”), observam-se mais casos de HCM nesses últimos, especialmente quando têm traços fenotípicos das raças predispostas, do que casos de indivíduos com “pedigree”/estalo. Por conseguinte, o que se pode concluir é que, devido também às diversas doenças que a espécie *Felis catus* pode desenvolver, qualquer gato de idade adulta, meia-idade ou geriátrico pode exibir um quadro de HCM aquando da avaliação clínica. Para além dos dados sobre raças, também se identifica uma predominância masculina, com proporções, em relação ao sexo feminino, tipicamente em torno de 3:1. Este dado pode refletir uma verdadeira disparidade sexual, ou a associação entre tamanho dos animais, pois os machos são normalmente maiores, e assim na ecocardiografia talvez alguns destes machos normais tenham critérios inclusivos para o diagnóstico de HCM (Kittleson and Côté 2021).

### **2.2.4. Apresentação e Sinais Clínicos**

Geralmente, a idade média de diagnóstico da doença é 6,5 anos de idade, no entanto o diagnóstico clínico está descrito em animais entre os 6 meses e os 16 anos de idade. Como é vulgar observar em doentes felinos, um gato com HCM exhibe sinais discretos e inespecíficos de doença até se encontrar em estadio avançado de doença. Deste modo, a HCM pode permanecer assintomática até se instalar derrame pleural, pericárdico ou peritoneal/ascite. Nesse momento, os sintomas que o animal apresenta são normalmente de dispneia, fraqueza generalizada, hiporrexia ou anorexia, prostração e, em última instância, perda de consciência (Atkins 2004; Johnson and Luis Fuentes 2016; Kwart 2016).

Não obstante, existem condições patológicas como acromegalia e hipertiroidismo que predispoem a HCM, mas uma particularidade destas condições é que não desencadeiam um aumento de espessura do miocárdio ao ponto de se observar HCM grave; apenas ligeira a moderada. Por outras palavras, se se examinar um gato com hipertiroidismo e este apresentar, pelos critérios “standard”, HCM grave, é provável que haja alguma outra

comorbidade ou predisposição individual que, juntamente com a doença metabólica, desencadeia essa alta gravidade, e não somente essa doença metabólica *per si* (Kittleson and Côté 2021).

### **2.2.5. Meios Complementares de Diagnóstico e Terapêutica (MCDT)**

Os MCDT mais relevantes para o diagnóstico para HCM em gatos estão amplamente descritos, apesar de na prática clínica nem sempre serem fáceis de aplicar, devido a vários fatores externos ao clínico, como por exemplo a qualidade do ecógrafo, as contraturas musculares do tórax e os movimentos do gato, a necessidade muitas vezes de anestesia ou sedação, entre outros fatores.

A auscultação cardio-torácica, efetuada na clínica corrente, permite numa primeira instância avaliar e cronometrar o batimento cardíaco existente, sendo que o que se verifica normalmente são os fechamentos das válvulas atrioventriculares, que correspondem ao denominado S1, e ao das válvulas semilunares (aórtica e pulmonar), gerando o som auscultado e nomeado de S2. Estes sons, S1 e S2, são considerados os fisiológicos nos animais. Ademais, a auscultação permite uma avaliação auditiva sensível de forma a verificar se há aumento de turbulência no fluxo de sangue intracardíaco, isto é, se existe algum sopro cardíaco, e se ocorre algum som cardíaco anormal, essencialmente. De notar que a auscultação deve ser acompanhada de deteção do pulso arterial, mais frequentemente o femoral, para confirmar a sincronicidade/concordância entre o pulso tátil e cada batimento cardíaco (Willis 2016).

A ecocardiografia é considerada o exame “gold standard” para diagnóstico clínico de HCM em gatos. Para avaliação dos seus parâmetros, a “American College of Veterinary Internal Medicine” (ACVIM) criou diretrizes para uma abordagem consensual para medição e avaliação do ecocardiograma de Gatos (chamada adiante de Classificação ACVIM).

A radiografia tem o seu valor diagnóstico limitado, com baixa especificidade e sensibilidade, visto que só se observa cardiomegália neste meio complementar quando a cardiomiopatia é grave e se o animal apresentar alterações patológicas simultâneas, como edema pulmonar ou derrame pleural, que podem também ocorrer em casos de pneumonia, neoplasias torácicas e outras que levem a alterações nas imagens radiográficas. A radiografia torácica pode fortalecer a suspeita de HCM ou auxiliar na avaliação do grau de congestão; entretanto, embora possa haver cardiomegália e elevação dorsal da aorta em casos graves, em alguns gatos com insuficiência cardíaca a silhueta cardíaca pode parecer normal (Borgeat et al. 2014; Bonagura 2016). Desta forma, a interpretação de todos os dados radiográficos para o diagnóstico de HCM pode ser desafiante e até mesmo dúbio.

O eletrocardiograma também, a par da auscultação cardiororácica, permite avaliar a

FC, o ritmo do batimento cardíaco e a intensidade do mesmo. Este consiste num registo de diferenças de potencial elétrico entre elétrodos, resultantes das diferenças de potencial elétrico que ocorrem ao longo do corpo do animal devido à condução de impulso elétrico ao longo do miocárdio, que tomam assim sinais elétricos de diferentes sinais ou sentidos para diferentes elétrodos (Willis 2016).

A medição de PA também é uma prática clínica comum e importante para avaliação do estado geral do animal, especialmente num animal com alguma afeção cardíaca ou suspeita de uma afeção assim. Para a sua medição, podem-se utilizar métodos invasivos, por implementação de barorreceptores no interior de uma artéria, ou não invasivos, como esfigmomanómetro (vulgarmente conhecido como o medidor com braçadeira insuflável), tendo em conta que os não invasivos, pela sua baixa necessidade de prática e inocuidade do procedimento envolvido, são preferíveis (Johnson and Luis Fuentes 2010; Kvarn 2010; Stepien 2010; Willis 2010; R. Stephenson 2012).

Os marcadores cardíacos podem ser uma boa aposta para o diagnóstico, prognóstico e monitorização da HCM, sabendo que os seus valores indicarão o esforço que o organismo está a realizar para compensar as lesões e outras alterações cardiovasculares e indicarão a gravidade ou extensão das lesões cardíacas. Os biomarcadores mais relevantes existentes são o pró-peptido natriurético cerebral (pro-BNP) e a troponina cardíaca I (cTnI) (Kienle 2008; Tilley 2008; Langhorn et al. 2014; Bonagura 2016; Dias, R 2016).

Finalmente, podemos ter em consideração o aconselhamento de rastreio genético de raças predispostas, essencialmente testagem para os genes MyBCP3-A31P e MyBCP3-R820W para, respetivamente, indivíduos das raças Maine Coon e Ragdoll ou indivíduos com traços fenotípicos delas.

### **2.2.6. Classificação ACVIM**

Para a uniformização e, logo, para um entender consensual acerca da abordagem diagnóstica e terapêutica das cardiomiopatias em gatos, a ACVIM (American College of Veterinary Internal Medicine) publicou em 2020 orientações nesse sentido.

Para tal, estabeleceram um conjunto de parâmetros ecocardiográficos para diagnóstico “in vivo” de cardiomiopatias, tais como:

Em modo M: Espessura do Septo Interventricular em diástole (eSIVd), da Parede Livre em diástole (ePLVEd), a Dimensão Interna do ventrículo esquerdo em diástole e em sístole (diVEd e diVEs, respetivamente) e a Fração de Encurtamento do Ventrículo Esquerdo (FE), isto é, a percentagem de volume intraluminal do ventrículo que é reduzida, em relação ao seu volume luminal em diástole, em cada sístole.

Em 2D: As mesmas medições do modo M, acrescentado o rácio entre o diâmetro interno do Átrio Esquerdo e da artéria Aorta na diástole (dAE/dAo).

**Tabela 1: Valores ecocardiográficos de referência para gato, em 2D. Tabela adaptada de Boon (2011).**

Parâmetro	Média $\pm$ DP (mm)	Intervalo de valores
diVEd (mm)	12,7 $\pm$ 0,34	
diVEs (mm)	8,8 $\pm$ 0,72	
eSIVd (mm)	4,0 $\pm$ 0,31	
eSIVs (mm)	6,4 $\pm$ 0,29	
ePLVEd (mm)	4,0 $\pm$ 0,28	
ePLVEs (mm)	6,5 $\pm$ 0,40	
dAo (mm)	8,1 $\pm$ 0,53	
diAE (mm)	12,0 $\pm$ 0,51	
dAE/dAo		[1,13; 1,68]
FE (%)	31 $\pm$ 7%	

Legenda: diVEd- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da diástole; diVEs- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da sístole; eSIVd- Espessura do septo interventricular no fim da diástole; eSIVs- Espessura do septo interventricular no fim da sístole; ePLVEd- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da diástole; ePLVEs- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da sístole diAE- Diâmetro interno do átrio esquerdo; dAo- Diâmetro da aorta; dAE/dAo- rácio entre diAo e dAo; FE- Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo.

Dentro desta classificação, temos os gatos:

- i. em estadio A - sem sintomas ou evidência de anomalias cardíacas, mas predispostos a cardiomiopatia, por exemplo, ao serem de raça predisposta;
- ii. em estadio B1 - sem sintomas, mas já com alterações ecocardiográficas que acarretam baixo risco de insuficiência cardíaca (IC), sendo a pior situação a congestiva (ICC) e/ou tromboembolismo arterial felino (TEAF);
- iii. em estadio B2 - também não apresentam sintomas tal como em B1, mas as alterações ecocardiográficas permitem concluir um alto risco de ICC e/ou TEAF;
- iv. em estadio C - no qual já há sinais de ICC e/ou TEAF;
- v. estadio D - em que, além de se encontrar em estadio C, o animal é refratário à terapêutica.

O último estadio é, claramente, o de pior prognóstico e que compromete a qualidade de vida do animal, em que há evolução negativa do seu estado orgânico, com perda de bem-estar.

Para certos parâmetros, não há uma completa concordância dos valores máximos de referência, por exemplo referindo-se ao dAE/dAo, que em várias referências bibliográficas apresenta diferentes valores determinados por diferentes autores (Boon 2011).

### 2.2.7. Prognóstico

O prognóstico dos gatos com HCM depende do estadio da doença quando é diagnosticada, da “compliance” dos detentores à terapêutica e do acompanhamento do animal. No entanto, vários estudos, considerando os vários fatores a influenciar o tempo de sobrevivência desses gatos após o diagnóstico, permitem concluir de forma genérica que esse tempo é sensivelmente de 2 anos (Payne et al. 2010; Spalla et al. 2016).

Por exemplo, os gatos diagnosticados como estadio B2, sem tratamento, têm maior probabilidade de evoluírem para IC ou TEAF. Isto verifica-se quando se observam hipertrofia e disfunção sistólica do ventrículo esquerdo, quando temos ruído de galope com pulso ou arritmias no exame clínico, ou quando observamos enfraquecimento da ação expulsiva da porção funcional esquerda do coração, por diminuição da fração de encurtamento e hipocinesia do miocárdio. Por seu lado, gatos que sejam diagnosticados num estadio A ou B1 têm maior probabilidade de viverem boa qualidade de vida durante mais tempo, principalmente se se detetar a progressão para B2, que justifica tratamento médico, para atrasar a evolução negativa do quadro clínico. Dentro das opções terapêuticas disponíveis, não existe um consenso acerca das farmacoterapias mais eficazes no estadio B2, apesar de IECA's, como o benazepril, e diuréticos, como espironolactona, terem sido sujeitos a estudos significativos para definir a sua importância no manejo de HCM em estadio B2. No estadio C, estadio onde começa a existência de IC, terapêuticas de efeito mais rápido e brusco como furosemida e torasemida são indicadas, bem como a oxigenoterapia. Com a estabilização certa, um acompanhamento com prescrição crónica de furosemida na IC crónica permite um manejo mais estável do quadro clínico. Antiagregantes plaquetários como clopidogrel, especialmente com sinais que evidenciam risco de TEAF são benéficos e aumentam a expectativa de vida do animal. No estadio D, em que a IC persiste de forma refratária ao tratamento, uma terapia multimodal com furosemida, espironolactona e pimobendan parece ser a escolha de fármacos que melhor demonstram evidência de eficácia do tratamento (Luis Fuentes et al. 2020; Kittleson and Côté 2021).

**Tabela 2: Classificação de estadio de cardiomiopatia hipertrófica segundo consenso ACVIM 2020. Tabela adaptada de Luis Fuentes et al. (2020).Original.**

<b>Estadio A</b>	Animal de raça predisposta (exemplos: Maine Coon ou Ragdoll), sem sinais ou sintomas	
<b>Estadio B</b>	<b>Estadio B1</b>	Animal sem sintomas clínicos de IC, mas alterações ligeiras com ou sem expressão hemodinâmica na ecocardiografia
	<b>Estadio B2</b>	Animal sem sintomas clínicos de IC, mas alterações expressivas hemodinâmicas na ecocardiografia. Alto risco de IC. Indicação: Vigilância regular e terapêutica diurética
<b>Estadio C</b>	Animal com sintomas clínicos de IC e alterações com expressão hemodinâmica na ecocardiografia. Indicação: Oxigenoterapia, terapêutica diurética e antiagregante e vigilância. Prognóstico reservado.	
<b>Estadio D</b>	Critérios de estadio C e não responsivo ao tratamento. Indicação: Oxigenoterapia, terapêutica diurética e antiagregante e vigilância. Prognóstico muito reservado.	

Legenda: IC- insuficiência cardíaca.

## **2.3. Histopatologia da Cardiomiopatia Hipertrófica (HCM) em gatos**

### **2.3.1. Hipertrofia miocárdica**

A cronicidade da hipertrofia miocárdica existente e crescente, causada pelos mecanismos primários e secundários referidos anteriormente, acarreta uma exigência de oxigênio superior ao que a rede arterial coronária pode transportar e desencadeia alterações prejudiciais ao coração e ao seu normal funcionamento, chamada por alguns autores de cardiomiopatia por sobrecarga. Mais precisamente, temos morte dos cardiomiócitos, inflamação e substituição destes por tecido fibroso e diminuição do aporte sanguíneo ao tecido cardíaco e do alcance da nutrição e remoção de metabolitos deste tecido. Os cardiomiócitos podem reagir nesta sequência por várias origens: nutricionais (como a deficiência em nutrientes como vitamina E, tiamina, potássio, entre outros); por xenobióticos (como os fármacos digitálicos e o cobalto), ou endobióticos (como a urémia); ou por estímulos físicos e/ou nervosos (como danos no Sistema Nervoso Central (por traumatismo ou doença), stress e choque).

A hipertrofia miocárdica pode ocorrer de forma difusa ou localizada e, dentro da difusa, pode ocorrer de forma assimétrica na morfologia/arquitetura do coração, gerando também alterações de fluxo sanguíneo intracardíaco, como aumento da turbulência (o que gera um sopro cardíaco), obstrução dinâmica e/ou disfunções diastólicas de certas porções do miocárdio.

A isquemia resultante da hipertrofia, diminuição do lúmen capilar coronário e

espessamento do espaço intercelular e intracelular, também a longo prazo, leva a perda de força contrátil e “deformação” de proteínas musculares plasmáticas. Não obstante, com o decorrer da evolução fibrótica do miocárdio, os cardiomiócitos vão-se afastando cada vez mais uns dos outros e das fibras nervosas que transmitem o sinal condutor contrátil. Por isso, no último estadio da HCM, quer a função diastólica, quer a função sistólica, estão comprometidas. Este último estadio é onde se insere a ICC como doença progressiva e de prognóstico reservado a mau.

Em resultado dessa hipertrofia, desse aumento da necessidade de energia e manutenção da integridade celular e da capacidade de estiramento das membranas citoplasmáticas, os cardiomiócitos podem romper ao longo do tempo, desenvolvendo micro- e macrolesões, com libertação do seu conteúdo celular, como sarcómeros e membrana celular, e como a cTnI, que, dessa forma, na imunohistoquímica apresentarão, presumivelmente, uma marcação mais fraca do que num coração normal/saudável (Borgeat et al. 2014; Wilkie et al. 2015; Novo Matos et al. 2018) .

### **2.3.2. Degenerescência celular e aparência histopatológica**

Durante a HCM, ocorre um aumento da espessura dos cardiomiócitos, isto é, a sua hipertrofia, e o incremento do esforço muscular e a incapacidade da irrigação coronária para o suportar, assim como a incapacidade de manter a manutenção da integridade celular, conduzem, assim, à rotura e à apoptose, sendo essas células substituídas por fibroblastos que produzem tecido conjuntivo fibroso (fibrose de substituição). As alterações celulares relacionadas com a falta de nutrientes e com a produção energética, na fisiopatologia da HCM, levam ao vulgarmente denominado de desorientação miofibrilar (em inglês, “myofibrillar disarray”), em que as células musculares cardíacas perdem a sua orientação paralela, bem definida entre si, e passam a estar orientadas em várias direções, não se observando um cadeia coesa entre elas para a normal contração síncrona, que se traduz também numa perda da correta sinalização elétrica para a contração, comprometendo o dromotropismo, cronotropismo, ionotropismo e batmotropismo fisiológicos (Biasato et al. 2015; Wilkie et al. 2015).

Com a necrose celular, os tecidos adquirem uma coloração pálida, que pode evoluir depois para amarelo ou branco, por vezes associado a calcificação/mineralização distróficas. Outros achados histopatológicos resultantes do quadro de HCM são a arteriosclerose, que consiste na existência de artérias com paredes mais espessas do que o normal e/ou envoltas num infiltrado celular em áreas de fibrose intersticial (White 2015; Galati et al. 2016; Kitz et al. 2019; Kittleson and Côté 2021; Liu et al.).

Contudo, na prática corrente, os patologistas têm enfrentado um dilema contraditório

em que os supostos achados teóricos de HCM não se encontram em amostras de tecido cardíaco, mesmo nos gatos em que se sabe à partida que tiveram HCM. Portanto, pode-se concluir que nem todos os gatos que têm HCM têm essas características histopatológicas no seu miocárdio, e é mais provável só existirem nos corações com maiores dimensões, ou seja, com hipertrofia mais grave (e maior peso) (Kittleson and Côté 2021).

Adicionalmente, com a degenerescência e morte celular, os compostos do citoplasma e sarcoplasma dos cardiomiócitos é libertado na corrente sanguínea, o que justifica o aumento de cTnI sérica em situações graves de HCM felina. Por sua vez, será de presumir que a presença intracelular de cTnI estará diminuída, o que observou Câmara et al. (2019) pela técnica de imunohistoquímica, num estudo direcionado à cardiomiopatia por stress em cetáceos.

## 2.4. Visão comparativa e translacional gato-humano

Desde há algumas décadas se tem constatado que a fisiopatologia, a patologia bioquímica/celular e a evolução semiológica que se observa na HCM em gatos são homólogas à HCM em seres humanos. Deste modo, esta homologia tem sido alvo de interesse na área da Cardiologia Humana, para maior compreensão da HCM, a partir da cardiopatia em gatos. (Kittleson et al. 1999; Joshua et al. 2023)

Mais precisamente, tem-se observado um auxílio dos estudos em fisiopatologia, na descrição das alterações bioquímicas e miofibrilares na HCM e, por sua vez, na geração de fármacos que se mostraram eficazes no tratamento de HCM em humanos, com a investigação clínica e laboratorial de HCM que ocorre em gatos (Ferguson et al., 2020a; Keam, 2022; Sharpe, Oldach, Kaplan, et al., 2023; Sharpe, Oldach, Rivas, et al., 2023).

Contudo, por seu lado, a cardiologia felina não tem beneficiado dos progressos de investigação e de tratamento, em comparação ao que se verifica na bibliografia para HCM em humanos. Além da discrepância que existe acerca de opções de terapêutica, farmacológica e cirúrgica, disponível para titulares e médicos veterinários para manejo e cura da HCM em felinos, também há a diferença marcante de investimentos para o estudo aprofundado da HCM no âmbito de Anatomia Patológica ou Medicina Veterinária Forense, uma vez que existem vários estudos em Medicina Humana em que recorrem a Imagiologia avançada (como, por exemplo, ressonância magnética) e programas de software avançados autónomos para a avaliação de amostras e gestão de dados.

Além disso, dentro da área da Anatomia Patológica em humanos, conseguiu-se concluir dados histopatológicos acerca das alterações celulares características e potencialmente patognomónicas de HCM, tais como padronização de valores normais e anormais de espessura de cardiomiócitos, de grau de fibrose e de grau de “desorganização” miofibrilar. Entre as conclusões que se realizaram, sugeriu-se que cardiomiócitos com espessura acima de 19,75 µm estão hipertrofiados e que presença de “desorganização” miofibrilar a partir de 10% é confirmativo de HCM (Tracy and Sander 2011; Maron and Fox 2015; Galati et al. 2016; Stern et al. 2016; Saba et al. 2017; Tejado and Jou 2018; Basso et al. 2021; Zampieri et al. 2021).

Portanto, vê-se a excelente oportunidade de mutuamente se incrementar conhecimento e boa prática médica e científica em “Cardiologia Animal” ao manter lado a lado a HCM em medicina veterinária e em medicina humana.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1. Objetivos

O objetivo principal deste estudo foi comparar e explorar as diferenças entre os parâmetros diagnósticos de Cardiomiopatia Hipertrofica Felina (HCM) in vivo e post mortem, de forma a identificar quais os achados post mortem que melhor espelham os parâmetros in vivo. Para cumprir este objetivo, as tarefas foram divididas para cumprir os seguintes objetivos secundários:

- Documentar os valores morfométricos obtidos à ecocardiografia em animais gatos com HCM seguidos no serviço de Cardiologia do HEV-FMV entre janeiro de 2022 e junho de 2023;
- Documentar os valores morfométricos obtidos em animais com e sem alterações sugestivas de HCM apresentados à necrópsia no laboratório de Anatomia Patológica da FMV entre março de 2023 e agosto de 2023;
- Comparar os valores morfométricos obtidos à ecocardiografia em animais gatos com HCM com os valores morfométricos obtidos em animais com HCM à necrópsia;
- Determinar valores de corte para as medições morfométricas macroscópicas realizadas “post mortem” que determinem uma suspeita ou diagnóstico de HCM;
- determinar se, em corações notoriamente hipertrofiados, existem alterações histopatológicas e de marcação imunohistoquímica que se possam considerar como critérios objetivos e quantitativos de diagnóstico;
- determinar um conjunto de valores padrão da espessura dos cardiomiócitos que determinem um diagnóstico histopatológico de HCM.

Serão comparados: a espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no final da diástole (ePLVEd), a dimensão interna do ventrículo esquerdo no final da sístole (diVEs), a dimensão interna do ventrículo esquerdo no final da diástole (diVEd), a espessura da parede do septo interventricular no final da diástole (eSIVd), o diâmetro do átrio esquerdo (dAE), o diâmetro da raiz aórtica (dAo) e a relação átrio esquerdo-raiz aórtica (dAE/dAo), na ecocardiografia.

## 3.2. Seleção de elementos amostrais e tipo de estudo estatístico

### 3.2.1 Amostras populacionais

#### Análise morfométrica in vivo

Os casos de HCM felina (n=17) foram recrutados na Faculdade de Medicina Veterinária do Hospital Escolar da Universidade de Lisboa – Serviço de Cardiologia entre, sensivelmente, janeiro de 2022 e junho de 2023.

Os parâmetros de inclusão incluíram: a) espécie felina; b) história clínica ou suspeita de cardiomiopatia hipertrófica.

Para uma melhor contenção e leitura dos dados da ecocardiografia, foram aconselhados fármacos tranquilizantes ou sedantes, como gabapentina (100mg) e/ou alfaxalona (0,2 mg/kg) e butorfanol (2mg/kg) respetivamente, de acordo com o protocolo médico gerido com o/a titular, com as possíveis reações adversas implicadas.

Para o diagnóstico foram utilizados os parâmetros ecocardiográficos indicados na Tabela 3.

**Tabela 3: Valores ecocardiográficos de referência para gato, em 2D. Tabela original baseada em Boon (2011).**

Parâmetro	Média $\pm$ DP (mm)	Intervalo de valores
diVEd (mm)	12,7 $\pm$ 0,34	
diVEs (mm)	8,8 $\pm$ 0,72	
eSIVd (mm)	4,0 $\pm$ 0,31	
eSIVs (mm)	6,4 $\pm$ 0,29	
ePLVEd (mm)	4,0 $\pm$ 0,28	
ePLVEs (mm)	6,5 $\pm$ 0,40	
dAo (mm)	8,1 $\pm$ 0,53	
diAE (mm)	12,0 $\pm$ 0,51	
dAE/dAo		[1,13; 1,68]
FE (%)	31 $\pm$ 7%	

Legenda: diVEd- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da diástole; diVEs- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da sístole; eSIVd- Espessura do septo interventricular no fim da diástole; eSIVs- Espessura do septo interventricular no fim da sístole; ePLVEd- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da diástole; ePLVEs- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da sístole; dAE- Diâmetro do átrio esquerdo; dAo- Diâmetro da aorta; dAE/dAo- rácio entre dAo e dAo; FE- Fração de encurtamento, em percentagem.

### **Análise morfométrica, histopatológica e imunohistoquímica “post mortem”**

Os casos foram recrutados entre os animais enviados para necrópsia no serviço de Anatomia Patológica do HEV-FMV/FMV entre 1 de março e 31 de agosto de 2023. Foram avaliados um total de 32 casos.

Os casos foram depois divididos em dois grupos (controle e HCM), de acordo com o peso do coração.

Uma vez que as referências bibliográficas são discordantes em relação ao peso a partir do qual se deve assumir uma suspeita de HCM, variando de 17g de peso total (King et al. 2014) a 7g coração/Kg de peso vivo (e.g., 28g para um gato de 4Kg) (Zachary 2021), os casos foram distribuídos pelos grupos de acordo com dois cenários:

#### **Cenário 1 - Cutoff de 17 g baseado em King et al (2014)**

Neste cenário, todos os animais com peso cardíaco total igual ou superior a 17 g foram considerados suspeitos de HCM. Neste cenário, o grupo de controle incluía 14 animais, enquanto o grupo HCM incluía 18 animais.

#### **Cenário 2 - Cutoff de 20 g baseado em Kittleson e Côté (2021)**

Neste cenário, todos os animais com peso cardíaco total igual ou superior a 19 g foram considerados suspeitos de HCM. Neste cenário, o grupo de controle incluía 23 animais, enquanto o grupo HCM incluía 9 animais.

### **Análise morfométrica**

A abordagem dos gatos do grupo “in vivo” consistiu na recolha de casos clínicos de HCM do serviço de Cardiologia do HEV-FMV.

Nos dados da ecocardiografia, tomou-se nota de parâmetros classificados como de base ou “standard” pela ACVIM, para um bom diagnóstico de HCM:

- Espessura do VE e do SIV em diástole (ePLVEd e eSIVd, respetivamente).
- Dimensão interna do VE em sístole e diástole (diVEs e diVEd, respetivamente) e a fração de encurtamento (FE) referente ao VE.
- Diâmetro interno da Ao (dAo) e do AE (dAE).
- O rácio dAE/dAo.

### **3.3. Obtenção de corações em necrópsia**

As amostras de corações para o grupo “postmortem” foram obtidos durante necrópsias realizadas pelo serviço de Anatomia Patológica da FMV-ULisboa. Para a extração do coração dos restantes órgãos torácicos, realizou-se o corte dos vasos sanguíneos principais situados na base do coração, nomeadamente a artéria aorta, a artéria pulmonar e as veias cava superior e inferior, com zona de incisão cerca de 1 a 2 cm acima do seu ponto de emergência.

Após a sua extração do cadáver, o coração foi mergulhado e mantido em formol tamponado a 10% durante pelo menos 24 horas para fixação.

Para todos os casos, foram documentados os seguintes parâmetros:

- Peso corporal total
- Peso total do coração
- Rácio peso coração: peso corporal
- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo (ePLVE)
- Espessura do septo interventricular (eSIV)
- Dimensão interna do ventrículo esquerdo (diVE)
- Diâmetro de átrio esquerdo (dAE)
- Diâmetro da aorta (dAo)
- Rácio dAE/dAo

Para a determinação das variáveis ePLVE, eSIV e diVE, compreendeu-se como localização de referência, para a sua medição, a inserção respetiva dos músculos papilares da válvula mitral.

### **3.4. Processamento laboratorial e histopatológico das amostras**

Após fixação, para cada coração, foi medido o diâmetro da aorta (dAo) (Fig 4). Cada coração foi depois seccionado ao nível do átrio esquerdo, de forma a obter uma visualização de toda a área interna semicircular, de acordo com o protocolo descrito no Anexo 2, para possibilitar a medição da dimensão interna do átrio esquerdo (dAE) (Figura 5).

Seguidamente, realizou-se um corte segundo o plano que interseca os eixos maiores dos átrios esquerdo e direito (Anexo 2). Este corte permitiu realizar a medição da espessura do septo interventricular (eSIV) (Figura 6) e da parede livre do ventrículo esquerdo (ePLVE) (Figura 7), a medição da dimensão interna do ventrículo esquerdo (diVE) (Figura 8). A medição das referidas espessuras foi realizada, em todos os casos, na zona de inserção do músculo papilar que se insere nessa porção do miocárdio (PLVE ou SIV). A medição do diVE

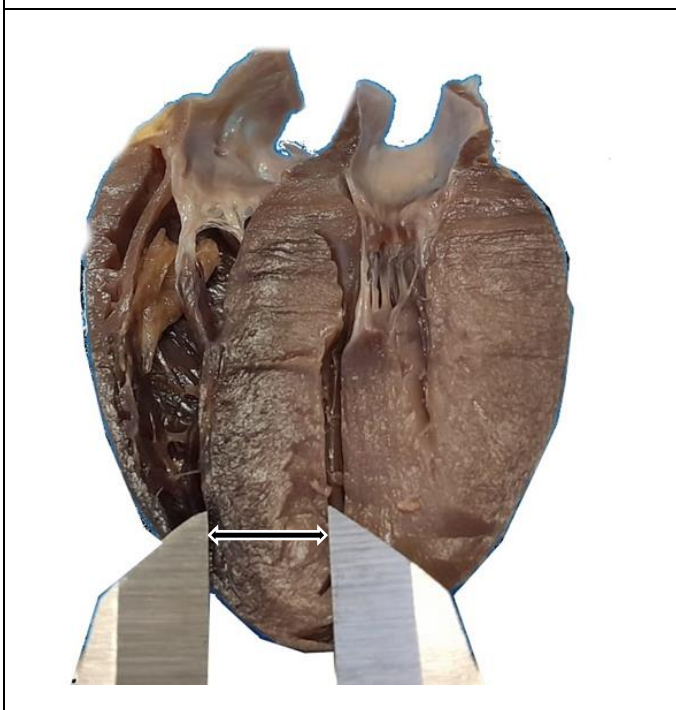
foi realizado no espaço existente entre os extremos mais próximos dessas duas medições anteriores, correspondendo, assim, ao lúmen ou dimensão interna de ventrículo esquerdo.



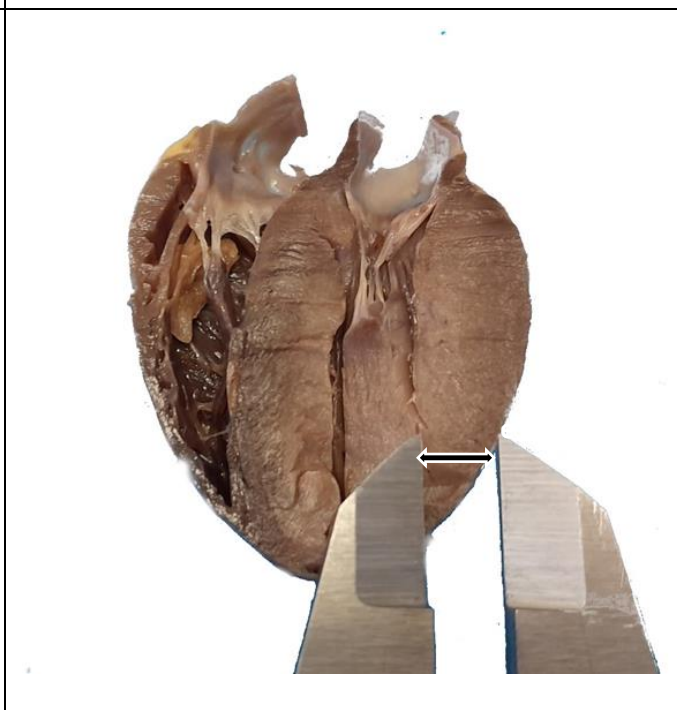
**Figura 4: Medição do dAo. Original.**



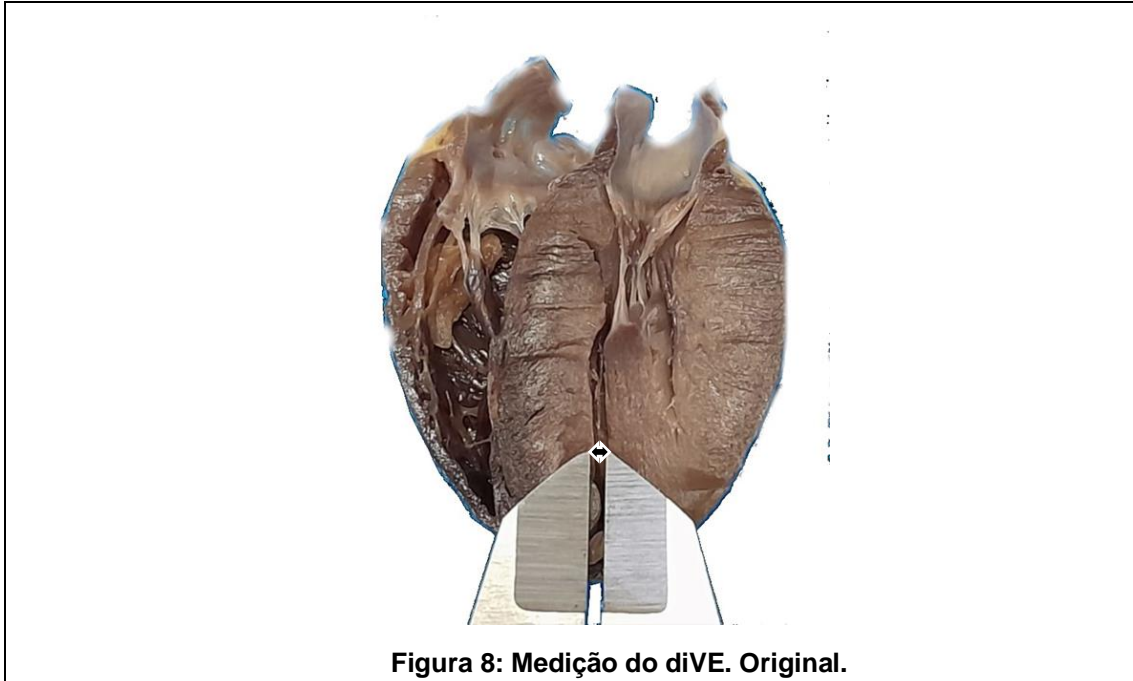
**Figura 5: Medição do diAE. Original.**



**Figura 6: Medição da eSIV. Original.**



**Figura 7: Medição de ePLVE. Original.**



**Figura 8: Medição do diVE. Original.**

Seguidamente foi feita a recolha de porções da parede livre do ventrículo esquerdo, da parede livre do ventrículo direito e do septo interventricular, com espessura aproximadamente de 3 mm para processamento histopatológico de rotina.

Foram colhidas amostras de tecido da parede livre do ventrículo direito (VD), da parede livre do ventrículo esquerdo (VE) e do septo interventricular (SIV).

Após amostragem, as porções de tecido obtidas foram desidratadas por imersão em concentrações crescentes de etanol, clarificadas por imersão em xilol, e imersas em parafina.

As amostras foram seguidamente imbuídas em parafina para, posteriormente, serem realizados cortes histológicos dos blocos de parafina com micrótomo rotativo LEICA RM 2135® com cerca de 3  $\mu$ m de espessura e posterior coloração de Hematoxilina-Eosina e de Tricrómio de Masson.

Além disso, foi produzido, um protocolo de imunohistoquímica anti-troponina I cardíaca, com anticorpo da empresa Thermofisher® para a cTnI, o 1HCLC (Anexo 2). O protocolo consistiu em, igualmente, obter uma amostra de 3  $\mu$ m para ser sujeito a recuperação do antigénio (cTnI). Em sequência, realizou-se o tratamento da amostra, incubando, nessa mesma, os tecidos com uma concentração de 1:100 (i.e, 5  $\mu$ g/mL) de 1HCLC, em diluente de anticorpos comercial, durante 1 hora. Finalmente, adicionou-se o anticorpo (Ac) secundário anti-IgG de coelho com o polímero de peroxidase, durante 30 minutos, com sequente diluição e revelação com diaminobenzidina (DAB) com cromogénio, em solução de peróxido de hidrogénio.

### **3.5. Padronização de espessura de cardiomiócitos**

Finalmente, procedeu-se, à medição sistemática da espessura (medida do eixo menor da célula em secção transversal) dos cardiomiócitos por microscopia ótica, segundo a metodologia de Tracy & Sander (2011) (Figura 10). Neste método, para cada caso, realizou-se a medição do diâmetro de 240 cardiomiócitos (60 células x 4 áreas) da parede livre do ventrículo esquerdo, 240 cardiomiócitos (60 células x 4 áreas) do septo interventricular e 180 cardiomiócitos (60 células x 3 áreas) da parede livre do ventrículo direito.

Para facilitar a avaliação, estas medições foram efetuadas em cortes histológicos corados com a coloração histoquímica de Tricrómio de Masson.

Ao valor da dimensão do eixo menor em secção transversal foi aplicado o fator de correção de 1,048 (ou seja, valor desse eixo x 1,048), de acordo com Tracy and Sander (2011).

### **3.6. Análise de dados**

Os dados recolhidos durante a análise morfométrica foram analisados utilizando o software IBM SPSS Statistics®. Cada parâmetro foi analisado para teste de normalidade com os testes Shapiro-Wilk. Os parâmetros com distribuição normal foram analisados com o teste estatístico de “t-Student”, enquanto os parâmetros sem distribuição normal foram analisados com o teste estatístico “Mann Whitney-U” para determinar se existem diferenças significativas entre o grupo controlo e o grupo HCM.

Os dados recolhidos foram analisados para: a comparação entre parâmetros morfométricos entre gatos com e sem HCM dentro dos grupos “post mortem”; comparação de achados histopatológicos (grau de fibrose, arteriosclerose e infiltração inflamatória) entre gatos com e sem HCM (Tabela 2); presença de cTnI intracelular entre gatos com e sem suspeita de HCM; e comparação da espessura dos cardiomiócitos entre gatos com e sem HCM.

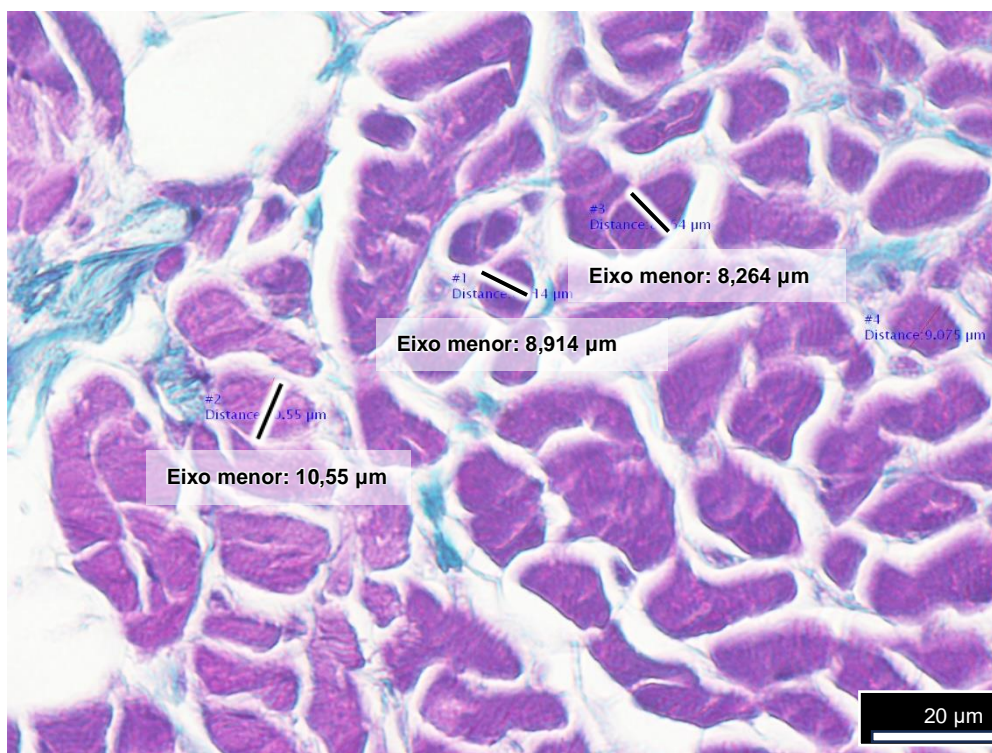
A expressão imunohistoquímica de cTnI foi avaliada para pesquisa de zonas de redução ou perda de marcação.

Os parâmetros ecocardiográficos do grupo “in vivo”, diagnosticados com HCM, foram comparados com os casos de gatos do grupo HCM. Dada a indisponibilidade de casos diagnosticados em vida para necrópsia, os grupos “in vivos” e “postmortem”

(controle e HCM) contém diferentes elementos amostrais entre si.

**Tabela 4: Tabela descritiva dos valores e designações de graus de alterações histopatológicas. Tabela original baseada em Hughes (2004), Hata et al. (2019) e Basso et al. (2021).**

Parâmetros histopatológicos	Valores normais (0)	Grau ligeiro (1)	Grau moderado (2)	Grau grave/extenso (3)
Grau de fibrose	0% (nulo)	]0;30] %	[30;60] %	>60 %
Grau de arteriosclerose	0% (nulo)	]0;30] %	[30;60] %	>60 %
Grau de “myofibrillar disarray”	0% (nulo)	[1;4] %	]4;9] %	>10%
Grau de infiltração inflamatória	0% (nulo)	]0;30] %	[30;60] %	>60 %



**Figura 9: Medição da espessura dos cardiomiócitos (Tricrômio de Masson, 40x). Original.**

## 4. Resultados

### 4.1. Parâmetros morfométricos medidos “post mortem”

De acordo com o teste de Shapiro-Wilk, os parâmetros ePLVE, diVE, dAo, rácio dAE/dAo e rácio peso coração/ peso corporal - que apresentaram valores de p inferiores a 0,05, para um intervalo de confiança de 95% - não apresentavam distribuição normal, enquanto os parâmetros eSIV e diAE apresentavam distribuição normal.

Cenário 1 – “Cutoff” de 17 g.

Neste cenário, apenas se observaram diferenças significativas entre os dois grupos para os parâmetros diVE, eSIV, diAE e rácio dAE/dAo (Tabela 6). Resumidamente, no grupo de controlo, obtiveram-se os seguintes valores para estas variáveis (Média  $\pm$ DP): diVE (6,34 $\pm$ 1,64), eSIV (6,40 $\pm$ 1,17), diAE (6,91 $\pm$ 2,36), dAE/dAo (1,41 $\pm$ 0,25). No grupo HCM, os valores obtidos foram (Média  $\pm$ DP): diVE (7,52 $\pm$ 1,48), eSIV (8,55 $\pm$ 2,28), diAE (9,85 $\pm$ 3,39), dAE/dAo (1,81 $\pm$ 0,66).

**Tabela 5: Parâmetros morfométricos do grupo controlo e do grupo HCM, no**

Grupo	Controlo		HCM		Valor de $\rho$
	Média $\pm$ DP (mm)	Min-Máx (mm)	Média $\pm$ DP (mm)	Min-Máx (mm)	
diVE*	6,34 ( $\pm$ 1,64)	2,80-8,14	7,52 ( $\pm$ 1,48)	3,3-10	$\rho < 0,05$
eSIV**	6,40 ( $\pm$ 1,17)	4,0-8,10	8,55 ( $\pm$ 2,28)	3,23-14	$\rho \leq 0,01$
ePLVE	4,67 ( $\pm$ 2,40)	1,2-9,0	5,7 ( $\pm$ 3,09)	1,45-14	$\rho > 0,05$
diAE*	6,91 ( $\pm$ 2,36)	3,0-10,0	9,85 ( $\pm$ 3,39)	3,0-17,0	$\rho < 0,05$
dAo	4,94 ( $\pm$ 1,45)	1,6-7,07	5,42 ( $\pm$ 1,61)	1,5-7,5	$\rho > 0,05$
dAE/dAo*	1,41 ( $\pm$ 0,25)	1,03-1,88	1,81 ( $\pm$ 0,66)	1,0-4,0	$\rho < 0,05$
Peso coração	14,44 ( $\pm$ 2,3)	8,3-16,65	21,32 ( $\pm$ 5,19)	17,45-36,4	$\rho > 0,05$
Peso coração/Peso corporal	0,42 ( $\pm$ 0,18)	0,20-0,95	0,48 ( $\pm$ 0,07)	0,23-0,91	$\rho > 0,05$

Legenda: DP- Desvio padrão; Min- Valor mínimo medido; Máx- Valor máximo medido; diVE- Dimensão interna do ventrículo esquerdo; eSIV- Espessura do septo interventricular; ePLVE- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo; diAE- Diâmetro interno do átrio esquerdo; dAo- Diâmetro da aorta; dAE/dAo- rácio entre diAo e dAo; Peso coração- peso do coração no “post mortem”; Peso coração/Peso corporal- rácio entre Peso coração e o peso total do cadáver; \* -  $\rho < 0,05$ ; \*\* -  $\rho \leq 0,01$ .

Cenário 2 – “Cutoff” de 20 g.

Neste cenário, apenas se observaram diferenças significativas entre os dois grupos para os parâmetros diVE, eSIV, diAE e rácio dAE/dAo (Tabela 7).

Resumidamente, no grupo de controlo, obtiveram-se os seguintes valores para estas variáveis (Média  $\pm$ DP): diVE (6,60 $\pm$ 1,77), eSIV (6,88 $\pm$ 1,70), diAE (7,52 $\pm$ 3,21), dAE/dAo (1,55 $\pm$ 0,65). No grupo HCM, os valores obtidos foram (Média  $\pm$ DP): diVE (7,88 $\pm$ 0,86), eSIV (9,21 $\pm$ 2,22), diAE (10,86 $\pm$ 2,19), dAE/dAo (1,88 $\pm$ 0,30).

**Tabela 6: Parâmetros morfométricos do grupo controlo e do grupo HCM, no cenário 2.**

Grupo	Controlo		HCM		Valor de $\rho$
	Média $\pm$ DP (mm)	Mín-Máx (mm)	Média $\pm$ DP (mm)	Mín-Máx (mm)	
diVE*	6,62 ( $\pm$ 1,73)	2,80-10	7,98 ( $\pm$ 0,85)	6,7-8,9	$\rho < 0,05$
eSIV**	6,91 ( $\pm$ 1,66)	3,23-10,10	9,40 ( $\pm$ 2,27)	7,35-14,0	$\rho \leq 0,01$
ePLVE	5,03 ( $\pm$ 3,08)	1,20-14,0	5,80 ( $\pm$ 2,05)	2,0-8,50	$\rho > 0,05$
diAE**	7,76 ( $\pm$ 3,33)	3,0-17,0	10,62 ( $\pm$ 2,18)	7,38-14,0	$\rho \leq 0,01$
dAo	5,16 ( $\pm$ 1,59)	1,50-7,50	5,69 ( $\pm$ 0,94)	3,75-6,80	$\rho > 0,05$
dAE/dAo**	1,56 ( $\pm$ 0,63)	1,0-4,0	1,88 ( $\pm$ 0,32)	1,44-2,45	$\rho \leq 0,01$
Peso coração	15,99 ( $\pm$ 2,62)	8,3-19,0	24,49 ( $\pm$ 5,86)	20,22-36,40	$\rho > 0,05$
Peso coração/Peso corporal (%)	0,41 ( $\pm$ 0,16)	0,20-0,95	0,57 ( $\pm$ 0,18)	0,35-0,91	$\rho > 0,05$

Legenda: DP- Desvio padrão; Min- Valor mínimo medido; Máx- Valor máximo medido; diVE- Dimensão interna do ventrículo esquerdo; eSIV- Espessura do septo interventricular; ePLVE- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo; diAE- Diâmetro interno do átrio esquerdo; dAo- Diâmetro da aorta; dAE/dAo- rácio entre diAo e dAo; Peso coração- peso do coração no “post mortem”; Peso coração/Peso corporal- rácio entre Peso coração e o peso total do cadáver, em percentagem; \*-  $\rho < 0,05$ ; \*\*-  $\rho \leq 0,01$ .

#### **4.2. Comparação entre parâmetros morfométricos em vida (ecográficos) e post mortem (medição direta):**

Dada a necessidade de avaliação dos parâmetros morfométricos em sístole e em diástole (Tabela 8) (que não ocorrem após a morte), e da marcada diferença para cada parâmetro entre estas duas fases do ciclo cardíaco, não foi possível realizar testes estatísticos para correlacionar os parâmetros morfométricos medidos “in vivo” com os parâmetros “post mortem”.

**Tabela 7: Parâmetros morfométricos do grupo “in vivo”.**

Parâmetro	diVEd (mm)	diVEs (mm)	eSIVd (mm)	eSIVs (mm)	ePLVEd (mm)	ePLVEs (mm)	diAE (mm)	dAo (mm)	dAE/dAo
Média	15,33	8,16	5,12	6,94	5,04	7,04	13,74	8,83	1,64
Desvio padrão	3,23	3,03	1,65	2,14	1,74	2,56	4,41	2,48	0,52
Mínimo	12,08	0,49	0,67	0,86	0,68	1,06	1,97	0,78	1,10
Máximo	25,97	13,73	6,88	10,74	8,78	11,38	22,29	11,77	2,62

Legenda: Mínimo- Valor mínimo medido; Máximo- Valor máximo medido; diVEd- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da diástole; diVEs- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da sístole; eSIVd- Espessura do septo interventricular no fim da diástole; eSIVs- Espessura do septo interventricular no fim da sístole; ePLVEd- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da diástole; ePLVEs- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da sístole; dAE- Diâmetro do átrio esquerdo; dAo- Diâmetro da aorta; dAE/dAo- rácio entre dAo e dAo.

Como exemplo, a tabela 7 mostra os valores médios dos parâmetros diVE, eSIV, e ePLVE “in vivo” e os valores médios dos parâmetros “post mortem” do grupo HCM, ilustrando que os valores médios “post mortem” não são sobreponíveis nem com os valores em sístole, nem com os valores em diástole “in vivo”. No entanto, entre as variáveis homólogas, eSIVs, no grupo “in vivo”, e eSIV, no grupo HCM, são as que demonstram proximidade de valores, a rondar entre 6 e 10 mm em 11 dos 17 casos do grupo “in vivo” (64,7%) e em 7 dos 9 casos do grupo HCM no cenário 2 e cenário 1 (77,8%), e, simultaneamente, variâncias praticamente iguais (variância de eSIVs é 4,762 no grupo “in vivo” e eSIV é 5,586 no cenário 1 e 5,159 no cenário 2).

**Tabela 8: Parâmetros morfométricos do grupo “in vivo” e do grupo “post**

Parâmetro	In vivo	Post mortem	
		Cenário 1	Cenário 2
diVEd	15,33 ( $\pm 3,23$ )	7,52 ( $\pm 1,48$ )	7,88 ( $\pm 0,86$ )
diVEs	8,16 ( $\pm 3,03$ )		
eSIVd	5,12 ( $\pm 1,65$ )	8,55 ( $\pm 2,28$ )	9,21 ( $\pm 2,22$ )
eSIVs	6,94 ( $\pm 2,14$ )		
ePLVEd	5,04 ( $\pm 1,74$ )	5,7 ( $\pm 3,09$ )	6,41 ( $\pm 3,36$ )
ePLVEs	7,04 ( $\pm 2,56$ )		

Legenda: diVEd- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da diástole; diVEs- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da sístole; eSIVd- Espessura do septo interventricular no fim da diástole; eSIVs- Espessura do septo interventricular no fim da sístole; ePLVEd- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da diástole; ePLVEs- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da sístole.

**Tabela 9: Variâncias dos parâmetros morfométricos do grupo “in vivo” e do**

Parâmetro	In vivo	Post mortem	
		Cenário 1	Cenário 2
Variância de diVEd	10,982	2,906	0,730
Variância de diVEs	9,152		
Variância de eSIVd	2,894	5,586	5,159
Variância de eSIVs	4,762		
Variância de ePLVEd	3,212	4,012	4,189
Variância de ePLVEs	6,541		

Legenda: diVEd- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da diástole; diVEs- Dimensão interna do ventrículo esquerdo no fim da sístole; eSIVd- Espessura do septo interventricular no fim da diástole; eSIVs- Espessura do septo interventricular no fim da sístole; ePLVEd- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da diástole; ePLVEs- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo no fim da sístole

### **4.3. Parâmetros e achados histopatológicos “post mortem”**

Uma vez que todas as amostras de tecido das regiões parede VD, VE e SIV mostraram uma distribuição “não normal” e que as mesmas são variáveis ordinais, recorreu-se ao teste “Mann Whitney-U” nestas variáveis.

Para o nível de significância de 5%, a maioria das variáveis em estudo não apresentou diferenças estatisticamente significativas, nem no cenário 1, nem no cenário 2. A única variável que mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos controlo e HCM foi o parâmetro fibrose na parede do ventrículo esquerdo (VE), no cenário 2.

Contudo, para observar se haveria diferenças, mesmo que estatisticamente não relevantes, entre os grupos controlo e HCM nos cenários 1 e 2, procedeu-se à observação das médias relativas às variáveis ordinais de cada grupo. Para isso, recolheram-se as “médias dos ranks” determinados pelo SPSS Statistics no contexto do teste “Mann Whitney-U”, que se baseia numa posição média de categoria, considerando as categorias estabelecidas das variáveis (0, 1, 2 e 3), a sua frequência e o número predefinido de “ranks”/categorias (que são 4) (Tabelas 8 e 9). Assim, a média total dos “ranks”/categorias é maior nos elementos do grupo HCM em ambos os cenários, indicando que existem alterações histopatológicas mais extensas e frequentes nesse grupo.

**Tabela 10: Média das ordinais histopatológicas segundo o teste “Mann Whitney-U”, no cenário 1.**

<b>Média de “ranks” da variável ordinal</b>	<b>Controlo</b>	<b>HCM</b>
<b>Média de fibrose VD</b>	16,54	16,47
<b>Média de fibrose VE</b>	13,21	19,06
<b>Média de fibrose SIV</b>	13,64	18,72
<b>Média de “myofibrillar disarray” VD</b>	15,89	16,97
<b>Média de “myofibrillar disarray” VE</b>	13,32	18,97
<b>Média de “myofibrillar disarray” SIV</b>	14,93	17,72
<b>Média de arteriosclerose VD</b>	16,68	16,36
<b>Média de arteriosclerose VE</b>	16,95	16,17
<b>Média de arteriosclerose SIV</b>	16,68	16,36
<b>Média de infiltração inflamatória VD</b>	16,95	16,17
<b>Média de infiltração inflamatória VE</b>	16,36	16,61
<b>Média de infiltração inflamatória SIV</b>	16,36	16,61
<b>Média total de “ranks”</b>	15,60	17,20

Legenda: Média de Fibrose- “Média de ranks” da variável Fibrose; Média de “Disarray” - “Média de ranks” da variável “Myofibrillar disarray”; Média de Arteriosclerose- “Média de ranks” da variável Arteriosclerose; Média de Infiltração Inflamatória- “Média de ranks” da variável Infiltração inflamatória; VD- Ventrículo Direito; VE- Ventrículo esquerdo; SIV- Septo interventricular.

**Tabela 11: Média das ordinais histopatológicas segundo o teste “Mann Whitney-U”, no cenário 2.**

<b>Média de “ranks” da variável ordinal</b>	<b>Controlo</b>	<b>HCM</b>
<b>Média de fibrose VD</b>	15,93	17,94
<b>Média de fibrose VE</b>	13,93	23,06
<b>Média de fibrose SIV</b>	14,48	21,67
<b>Média de “myofibrillar disarray” VD</b>	16,00	17,78
<b>Média de “myofibrillar disarray” VE</b>	15,22	19,78
<b>Média de “myofibrillar disarray” SIV</b>	15,61	18,78
<b>Média de arteriosclerose VD</b>	16,22	17,22
<b>Média de arteriosclerose VE</b>	16,89	15,50
<b>Média de arteriosclerose SIV</b>	16,22	17,22
<b>Média de infiltração inflamatória VD</b>	15,98	17,83
<b>Média de infiltração inflamatória VE</b>	15,72	18,50
<b>Média de infiltração inflamatória SIV</b>	16,07	17,61
<b>Média total de “ranks”</b>	15,895	18,055

Legenda: Média de Fibrose- “Média de ranks” da variável Fibrose; Média de “Disarray” - “Média de ranks” da variável “Myofibrillar disarray”; Média de Arteriosclerose- “Média de ranks” da variável Arteriosclerose; Média de Infiltração Inflamatória- “Média de ranks” da variável Infiltração inflamatória; VD- Ventrículo Direito; VE- Ventrículo esquerdo; SIV- Septo interventricular.

### 4.3.1. Troponina cardíaca I

Em relação à marcação imunohistoquímica para cTnI, observou-se marcação citoplasmática difusa e moderada a forte dos cardiomiócitos com o anticorpo 1HCLC. Esta marcação era consistente e semelhante em todos os cardiomiócitos, em ambos os grupos (controlo e HCM), independentemente do cenário ou da área do miocárdio observada (Figuras 10 e 11). As únicas alterações observadas estavam presentes em zonas de fibrose, nas quais cardiomiócitos danificados apresentavam marcação citoplasmática granular a globular, em vez de difusa (Figura 12). Foi ainda observada marcação positiva para cTnI no citoplasma de macrófagos nesta zona (Figura 12).

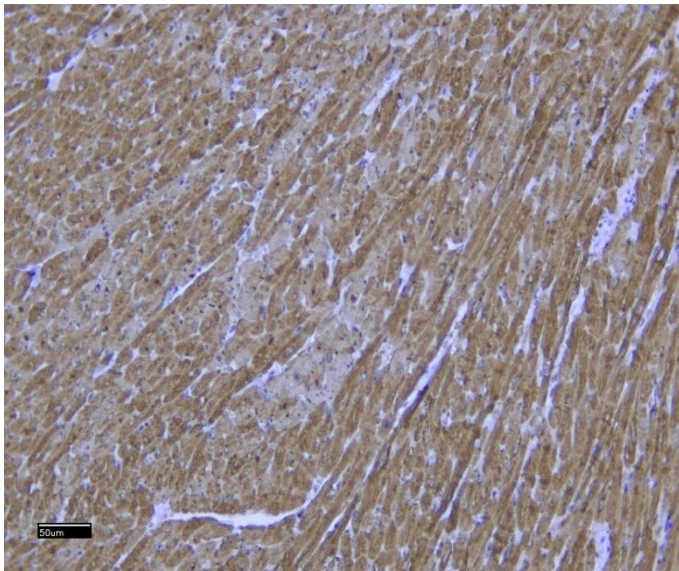


Figura 10

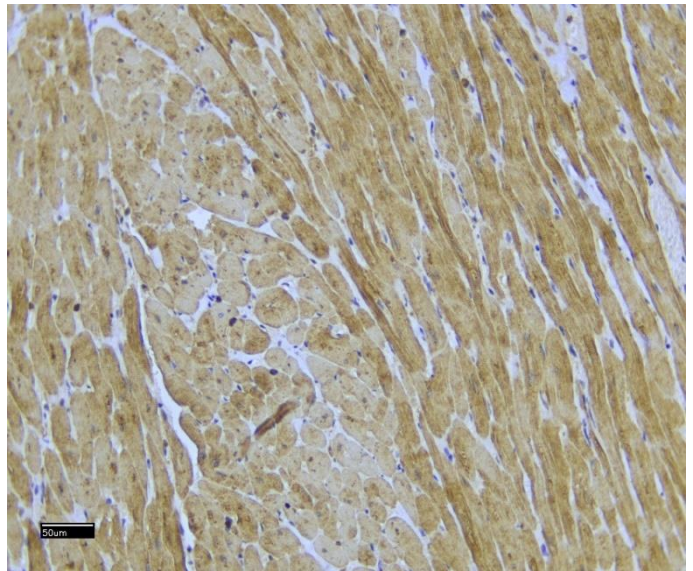
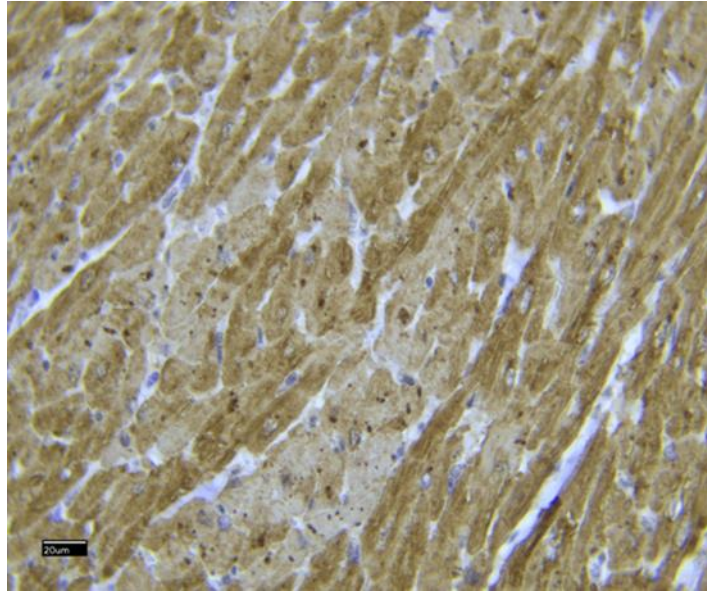
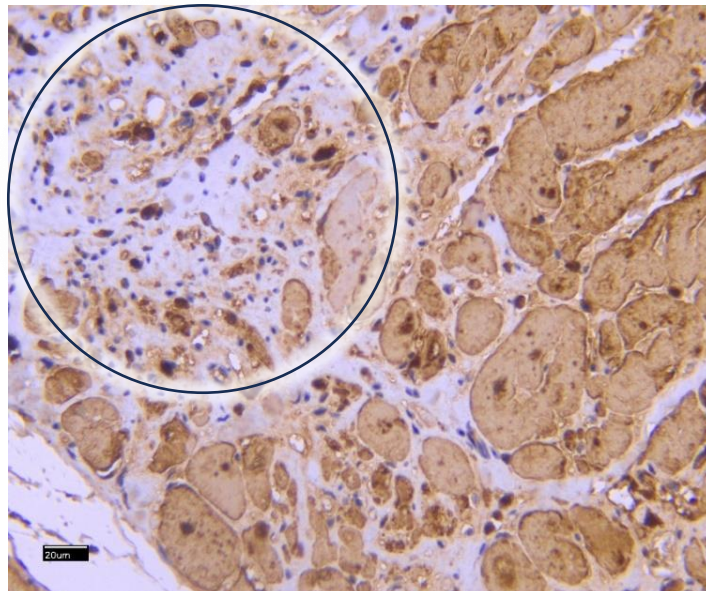


Figura 11

**Figuras 10 e 11: Observação de miocárdio com marcação imunohistoquímica para cTnI, ampliação de 20x, respetivamente, de amostras do grupo controlo e grupo HCM de ambos os cenários 1 e 2. Originais.**



**Figura 12: Observação de miocárdio com marcação imunohistoquímica para cTnI numa amostra do grupo controlo, ampliação de 40x. Original.**



**Figura 13: Observação de miocárdio com marcação imunohistoquímica local diminuída para cTnI numa amostra do grupo HCM, ampliação de 40x. A zona cicatricial está delimitada por um círculo. Original.**

#### 4.4. Espessura dos cardiomiócitos

Em ambos os cenários, 1 e 2, observaram-se diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e HCM.

No cenário 1, os valores médios de espessura dos cardiomiócitos para o grupo controle foram (Média  $\pm$ DP): VD- 8,06 ( $\pm$ 1,59); VE- 8,83 ( $\pm$ 1,55); SIV- 8,77 ( $\pm$ 1,79). Os valores médios de espessura dos cardiomiócitos para o grupo HCM foram (Média  $\pm$ DP): VD – 10,18 ( $\pm$ 1,88); VE – 11,70 ( $\pm$ 2,56); SIV – 10,98 ( $\pm$ 1,56).

No cenário 2, os valores médios de espessura dos cardiomiócitos para o grupo controle foram (Média  $\pm$ DP): VD- 8,56 ( $\pm$ 1,85); VE- 9,30 ( $\pm$ 1,96); SIV- 9,38 ( $\pm$ 1,87). Os valores médios de espessura dos cardiomiócitos para o grupo HCM foram (Média  $\pm$ DP): VD – 11,01 ( $\pm$ 1,34); VE – 13,36 ( $\pm$ 1,44); SIV – 11,63 ( $\pm$ 1,23).

Perante os resultados, realizou-se um estudo de curva ROC, para procurar um valor de espessura que represente um melhor compromisso entre a sensibilidade e especificidade. Concluíram-se que os seguintes valores para os cenários 1 e 2, descritos na Tabela 10.

**Tabela 12: Valores de melhor “compromisso” entre sensibilidade e especificidade obtida em curva ROC, para as várias regiões.**

Região	Cenário 1			Cenário 2		
	VD	VE	SIV	VD	VE	SIV
Valor ( $\mu$ m)	7,915	8,975	9,3	9,680	10,880	10,67
Sensibilidade (%)	94,4	83,3	88,9	88,9	100,0	77,8
Especificidade (%)	64,3	64,3	64,3	82,6	82,6	78,3

Legenda: VD- Amostra de ventrículo direito; VE- Amostra de ventrículo esquerdo; SIV- Amostra de septo interventricular; Sensibilidade- probabilidade de um caso, de valor médio de espessura de cardiomiócitos acima do indicado na tabela, ser verdadeiramente positivo; Especificidade- probabilidade de um caso, de valor médio de espessura de cardiomiócitos abaixo do indicado na tabela, ser verdadeiramente negativo.

#### 5. Discussão

A HCM é a cardiomiopatia mais frequente nos gatos. Os critérios definitivos para o seu diagnóstico “post mortem” representam um desafio para os patologistas, ao contrário da situação na clínica, em que a ecocardiografia apresenta, de momento, um conjunto cientificamente robusto de valores de referência para o diagnóstico de HCM com base nas medições de espessura e diâmetro de diferentes porções anatómicas do coração. Por esta razão, este estudo visou comparar e explorar as diferenças entre os parâmetros diagnósticos de cardiomiopatia hipertrófica (HCM) felina “in vivo” e “post mortem”, de forma a identificar quais os achados “post mortem” que melhor espelham os parâmetros “in vivo”.

Assim, inicialmente, realizou-se a medição de um conjunto de parâmetros morfométricos em corações colhidos “post mortem”, que foram escolhidos por refletirem parâmetros utilizados na ecocardiografia, utilizando metodologias que permitissem a simulação das projeções que são utilizadas para as medições à ecocardiografia.

Em relação a estes parâmetros morfométricos “post mortem”, apenas dois parâmetros (eSIV e diAE) apresentavam distribuição normal, enquanto os restantes não se distribuíam normalmente (ePLVE, diVE, dAo, rácio dAE/dAo e rácio peso coração/ peso corporal), o que limita a interpretação dos dados obtidos. Apesar disto, as diferenças significativas demonstradas pelo método não paramétrico utilizado, sugere que é possível determinar valores morfométricos macroscópicos das mesmas regiões que são analisadas e determinadas na ecocardiografia clínica.

No respeitante à comparação entre parâmetros morfométricos em vida (ecográficos) e “post mortem” (medição direta), há vários comentários mantendo em consideração o que se concluiu em medicina humana, como se enunciaram em seguida.

Dado que os elementos amostrais do grupo “in vivo” eram diferentes do grupo “post mortem” que se pretenderam comparar, não foi possível viavelmente comparar os parâmetros homólogos dos dois grupos. Não obstante, também há a considerar que, tal como mencionado por Basso et al (2020) em humanos, não se consegue determinar se um coração, analisado após a morte, se situa num estado mais próximo de sístole ou de diástole, devido a variados fatores como: o “rigor mortis”, que pode levar a uma aparente espessura aumentada das paredes das câmaras cardíacas e um lúmen diminuto; ou a necrose e putrefação tecidular favorecidas pelo prolongamento do estado cadavérico antes da necrópsia, que pode levar a aumento artefactual do lúmen dessas câmaras e a uma espessura, quando medida, normal ou diminuída. Além disso, no caso deste estudo realizado, os fenómenos de congelação e descongelação dos cadáveres pode também contribuir para alterações consideráveis ao nível celular e tecidular. No entanto, Maron et al (1977) constataram, em medicina humana, que os valores morfométricos à necrópsia se aproximam mais dos valores ecocardiográficos de sístole do que em diástole, especialmente do septo interventricular, como observado para eSIVs e eSIV (“post mortem”) no nosso estudo, em que a maior parte dos valores, aproximadamente 70% no grupo “in vivo” e HCM do cenário 2, situavam-se entre os 6 e 10 mm.

Portanto, um estudo longitudinal ou transversal, que permita uma correlação estatística apropriada, e que acompanhe os elementos amostrais ao longo do seu tempo “ante-” e “post mortem” ou que compare momentos precisos da sua vida com o “post mortem”, respetivamente, seria uma mais-valia para acrescentar mais parâmetros diagnósticos de HCM em felinos.

Não se observaram alterações histopatológicas na frequência esperada e descrita na literatura. Apesar de, segundo autores como Biasato et al (2015), Wilkie et al (2015), na área da cardiologia felina, e Lasker et al (2021) e Tejado and Jou (2018) na área da cardiologia humana, descreverem que o “myofibrillar disarray” é uma característica da fisiopatologia da HCM nas respetivas espécies, e de, em medicina humana, estarem descritos múltiplos padrões de “myofibrillar disarray” (Lasker et al 2021), só se observou de forma expressiva (grau moderado a grave em, pelo menos, uma das regiões) em 8 dos 18 casos do grupo HCM no cenário 1 (44,4%) e em 5 dos 9 casos do grupo HCM no cenário 2 (55%). Porém, como constado nas tabelas 8 e 9, a “média de ranks” é, de forma geral, maior no grupo HCM do que no grupo controlo nos dois cenários. Isto denota que, mesmo não se tendo observado diferença estatisticamente significativa entre os grupos controlo e HCM, está evidente que o grupo HCM teve, nos parâmetros histopatológicos, uma média de categorias/“ranks” superior. É razoável deduzir que, se se realizarem estudos posteriores com tamanho de amostra maior, poder-se-ão obter diferenças estatisticamente significativas nos parâmetros descritos e avaliados. Esta conclusão vai ao encontro do verificado, em estudos realizados em pacientes com doença cardíaca, como Wilkie et al (2015) e Biasato et al (2015) - em felinos- e Shirani et al (2000), Galati et al (2016), Hishimura et al (2017), Ishibashi-Ueda et al (2017) e Hata et al (2019) - em humanos- em que se observou maior frequência e maior grau de fibrose, arteriosclerose e “myofibrillar disarray” nos grupos de casos com doença cardíaca. Contudo, destaca-se que, na elaboração e execução desta avaliação histopatológica, não se encontrou fontes bibliográficas de medicina veterinária que descrevessem concretamente os critérios de divisão das alterações em grau ligeiro, moderado e grave, tendo-se recorrido a valores de critério mencionados em artigos isolados de medicina humana para criar uma tabela de classificação das alterações nesses graus. Portanto, apesar da base teórica dessa classificação não ser a ideal, este facto denota a necessidade, para repetibilidade e homogeneização da atribuição de graus de alterações, da sua definição objetiva e clara em termos numéricos/percentuais.

Em relação à marcação de imunohistoquímica para cTnI, não houve diferença significativa entre os corações com peso normal e com peso suspeito de HCM, como se observa nas Figuras 9 e 10. De facto, as únicas alterações observadas estavam presentes em zonas de fragmentação dos cardiomiócitos e fibrose, sugerindo que não é suficiente que haja aumento da permeabilidade da membrana celular, mas sim que ocorra lesão física (i.e., perda de integridade e fragmentação) dos cardiomiócitos para que a troponina cardíaca seja libertada para o meio extracelular.

Este facto pode estar relacionado com o relativamente escasso tempo de sobrevivência dos gatos diagnosticados com HCM, que é de, sensivelmente, 2 anos, como verificado por Rush et al (2002) e Spalla et al (2016), ou ainda inferior, por exemplo de alguns

meses, se existir já ICC ou TEAF e/ou ausência de terapêutica aplicada (Kittleson and Côté 2021). Deste modo, as lesões que vão ocorrendo nos corações desses gatos são pontuais, isto é, em zonas pequenas e limitadas do miocárdio, exceto se algum fenómeno agudo grave - como miocardite aguda - se manifestasse com uma degenerescência de uma quantidade considerável de cardiomiócitos e, assim, perda do seu conteúdo citoplasmático. Como essas situações são pouco frequentes em gatos doentes com HCM, normalmente não ocorre tempo ou extensão suficientes de doença para haver lesões celulares suficientemente relevantes para evoluírem para rotura da parede celular e, assim, libertação de cTnI e menor marcação em imunohistoquímica. Este tempo de vida curto contrasta com o tempo elevado de sobrevivência de doentes humanos com HCM, que pode ser de 20 anos ou uma expectativa de vida normal, comprovado por autores como Dominguez et al. (2018) e Sugiura et al. (2022), o que conduz a lesões celulares exuberantes nos casos de corações que se mantêm funcionantes durante mais tempo.

Estes achados sugerem que este marcador celular não é fidedigno para diagnóstico ou caracterização “post mortem” de HCM em felinos, embora Câmara et al. (2019) tenha verificado marcação de imunohistoquímica diminuída, para mais antigénios além de cTnI, em cetáceos que sofreram cardiomiopatia por stress.

Em relação à espessura dos cardiomiócitos, este foi o parâmetro que demonstrou maior potencial como ferramenta para o diagnóstico definitivo, permitindo determinação de valores “cut off”, mesmo na amostra reduzida utilizada neste estudo.

Em relação aos valores de espessura de cardiomiócitos, utilizando os métodos utilizados por Tracy e Sanders (2011), alcançou-se valores concretos de espessura média de cardiomiócitos nos cenários 1 e 2. No grupo HCM do cenário 2, essa espessura apresentou valores médios maiores e valores de “cut off” de espessura entre o grupo de controlo e HCM maiores do que no cenário 1. Isto ocorreu previsivelmente, porque, tendo os corações HCM no cenário 2 um peso maior do que no cenário 1, em média as suas células serão maiores. Tais resultados não são comparáveis com os de medicina humana dos autores suprarreferidos, visto que o valor único “cut off” obtido foi de 19,7  $\mu\text{m}$ . Esta discrepância pode dever-se, naturalmente, devido ao facto de um coração humano ser amplamente maior do que um coração de gato e, assim, por manutenção das proporções entre o órgão e as suas células, estas são maiores no ser humano.

Não obstante, no cenário 2, alcançou-se valores de “cut off” com uma sensibilidade elevada para uma das porções do coração que mais sofre com a hipertrofia miocárdica segundo o conhecimento clínico, que é o VE, com “cut off” de 10,88  $\mu\text{m}$ , sensibilidade de 100% e especificidade de 82,6% (e probabilidade de falsos positivos de 17,4%). Idealmente, dever-se-á, com aumento do número de dados de corações com HCM, obter uma especificidade o mais alta possível, para minimizar a probabilidade de falsos positivos.

Existe assim possibilidade de, com mais estudos futuros com maior tamanho de amostra, se determinarem valores padrão de tamanho máximo de cardiomiócitos que permitam um diagnóstico mais completo e definitivo e de confirmação da existência em vida de HCM, por exemplo, em casos forenses.

Todavia, todos os métodos realizados unicamente por visualização e definição por observador humano, em contraste com os métodos de tecnologia avançada e com inteligência artificial - nomeadamente, imagiologia avançada, como TC e ressonância magnética, e programas de software integrados nos aparelhos desses MCDTs e nos aparelhos de microscopia ótica ou eletrónica – que se utilizam nos estudos, artigos e por rotina na área da Anatomia Patológica e Medicina Forense em amostras de seres humanos. Nesses métodos, automaticamente: em corações em situação “post mortem”, são realizadas as medições morfométricas sem necessidade de concretizar cortes físicos desses corações; consegue-se estimar a percentagem das várias alterações particulares histopatológicas por lâmina de amostra; e obtém-se uma apreciação global dos eixos menores de cardiomiócitos e, assim, a sua espessura. A funcionalidade destes métodos computadorizados e automáticos permite, assim, uma redução do trabalho manual e do tempo dispensado pelos patologistas que realizam estes estudos a título de investigação ou prestação de serviços laboratoriais, o que se traduz numa gestão e num trabalho menos fatigantes, menos suscetíveis a erro humano e mais uniformizados. Em comparação ao trabalho e ao tempo dedicados neste estudo, vemos, nos métodos que envolvem a inteligência artificial e meios complementares mais evoluídos, uma oportunidade benéfica para a produtividade, rapidez e predefinição de parâmetros e critérios avaliativos na Anatomia Patológica e Medicina Forense em medicina veterinária, inicialmente em gatos na HCM, mas posteriormente noutras afeções cardíacas para as quais se exija um diagnóstico forense noutras espécies. Claramente, este comentário mantém em consideração a limitação de que essa elevada tecnologia se encontra menos acessível em medicina veterinária do que em medicina humana.

## 6. Conclusão

Concluindo, este estudo resultou num conjunto de observações que permitem uma melhor e mais completa compreensão morfológica e histopatológica da HCM em gatos. Destaca-se, no entanto, que as observações que se consideram mais relevantes foram as diferenças significativas entre grupos controlo e HCM na espessura dos cardiomiócitos medidos e a determinação de valores “cut off” de espessura para classificar um caso de coração felino como tendo ou não provavelmente HCM. Além disso, nos parâmetros morfológicos evidenciou-se diferenças significativas de eSIV nos dois cenários, indo ao encontro do mencionado por Maron et al. (1977) e, assim, indicando uma medição potencial a ser desenvolvida e padronizada futuramente com dados “in vivo”.

Contudo, este estudo apresentou várias limitações, tais como: a ausência de casos “in vivo” avaliados durante o tempo deste estudo científico, o que inviabilizou a obtenção de amostras de sangue para a determinação de cTnI sérica nos Gatos referenciados para o HEV; a impossibilidade de haver gatos que fossem acompanhados desde o seu tempo em vida, com os respetivos exames ecocardiográficos, até à sua necrópsia, para avaliar variáveis ecocardiográficas com morfológicas entre esses momentos da sua existência; e, por fim, o número de amostras para análise “post mortem”, sendo que, num número superior de elementos nos grupos controlo e HCM, poder-se-iam obter resultados estatisticamente mais relevantes ou robustos em todos os parâmetros.

Deste modo, também se conclui que mais estudos, com maior tamanho de amostra (não só observacionais, mas também meta-análise, retrospectivo a longo termo ou revisão sistémica), são necessários e com grande potencial para conseguir, de novo, uma melhor e mais completa compreensão da patologia clínica e histopatologia da HCM felina.

## 7. Bibliografia

- Abrahamsohn P. 2017. Tecido Muscular. In: Histologia Básica- Texto e Atlas. 13ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda. p. 199–201.
- Arackal A, Alsayouri K. 2023. Histology, Heart.
- Atkins C. 2004. Feline Hypertrophic Cardiomyopathy. In: 2004 WSAVA World Congress.
- Basso C, Michaud K, Banner J, Lucena J, Cunningham K, Leone O, Vink A, van der Wal AC, Sheppard MN. 2021. Cardiac hypertrophy at autopsy on behalf of the Association for European Cardiovascular Pathology. doi:10.1007/s00428-021-03038-0/Published. <https://doi.org/10.1007/s00428-021-03038-0>.
- Belerenian G, Donati PA, Rodriguez CD, Castillo V, Guevara JM, Pucheta C, Ferraris S, Olivares RWI. 2021. Findings suggestive of coronary microvascular dysfunction in cats with myocardial ischemia. *Open Vet J.* 11(3):468–470. doi:10.5455/OVJ.2021.v11.i3.20.
- Berne R, Levy M. 1997. Cardiovascular Physiology. 7th Edition. Saint Louis: Mosby.
- Biasato I, Francescone L, La Rosa G, Tursi M. 2015. Anatomopathological staging of feline hypertrophic cardiomyopathy through quantitative evaluation based on morphometric and histopathological data. *Res Vet Sci.* 102:136–141. doi:10.1016/j.rvsc.2015.08.004.
- Bonagura J. 2016. Feline cardiomyopathies. In: BSAVA Manual of Canine and Feline Cardiorespiratory Medicine. 2nd Edition. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p. 220–236.
- Boon J. 2011. Appendix Four: Feline. In: Veterinary Echocardiography. 2nd Edition. Iowa: Wiley-Blackwell. p.569-580
- Borgeat K, Sherwood K, Payne JR, Luis Fuentes V, Connolly DJ. 2014. Plasma Cardiac Troponin I Concentration and Cardiac Death in Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Vet Intern Med.* 28(6):1731–1737. doi:10.1111/jvim.12459.
- Cámara N, Sierra E, Fernández-Maldonado C, Espinosa de los Monteros A, Arbelo M, Fernández A, Herráez P. 2019. Stress cardiomyopathy in stranded cetaceans: a histological, histochemical and immunohistochemical study. *Veterinary Record.* 185(22):694–694. doi:10.1136/vr.105562.
- Dias RJG 2016. Avaliação dos valores séricos de troponina cardíaca I (cTnI) e capacidade antioxidante total (TAC) em felídeos com doença renal crónica e seu valor de prognóstico: estudo preliminar. [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV-Universidade de Lisboa.
- Dominguez F, Sanz-Sánchez J, García-Pavía P, Zorio E. 2018. Follow-up and prognosis of HCM. In: Global Cardiology Science and Practice. Vol. 2018. HBKU Press.
- Engelmann ThW. 1897. Ueber den myogenen Ursprung der Herzthätigkeit und über automatische Erregbarkeit als normale Eigenschaft peripherischer Nervenfasern. *Pflüger, Archiv für die Gesamte Physiologie des Menschen und der Thiere.* 65(11–12):535–578. doi:10.1007/BF01795562.

- Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the Dog and the Cat, 8th Edition.
- Ferasin L, Defrancesco T. 2015. Management of acute heart failure in cats. *Journal of Veterinary Cardiology*. 17:S173–S189. doi:10.1016/j.jvc.2015.09.007.
- Ferguson BS, Stern JA, Oldach MS, Ueda Y, Ontiveros ES, Napierski NC, Del Rio CL, Harris SP. 2020a. Acute effects of a mavacamten-like myosin-inhibitor (MYK-581 in a feline model of obstructed hypertrophic cardiomyopathy: evidence of improved ventricular filling (beyond obstruction relieve). *Eur Heart J*. 41(Supplement\_2). doi:10.1093/ehjci/ehaa946.3713.
- Ferguson BS, Stern JA, Oldach MS, Ueda Y, Ontiveros ES, Napierski NC, Del Rio CL, Harris SP. 2020b. Acute effects of a mavacamten-like myosin-inhibitor (MYK-581 in a feline model of obstructed hypertrophic cardiomyopathy: evidence of improved ventricular filling (beyond obstruction relieve). *Eur Heart J*. 41(Supplement\_2). doi:10.1093/ehjci/ehaa946.3713.
- Finn E, Freeman LM, Rush JE, Lee Y. 2010. The Relationship Between Body Weight, Body Condition, and Survival in Cats with Heart Failure. *J Vet Intern Med*. 24(6):1369–1374. doi:10.1111/j.1939-1676.2010.0584.x.
- Fox PR, Basso C, Thiene G, Maron BJ. 2014. Spontaneously occurring restrictive nonhypertrophied cardiomyopathy in domestic cats: a new animal model of human disease. *Cardiovascular Pathology*. 23(1):28–34. doi:10.1016/j.carpath.2013.08.001.
- Fox PR, MNS, SD. 1999. Feline Cardiomyopathy. In: *Textbook of Canine and Feline Cardiology - Principles and Clinical Practice*. Second Edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company. p. 628–685.
- Fox PR, Schober KA. 2015. Management of asymptomatic (occult) feline cardiomyopathy: Challenges and realities. *Journal of Veterinary Cardiology*. 17:S150–S158. doi:10.1016/j.jvc.2015.03.004.
- Freeman LM, Rush JE, Stern JA, Huggins GS, Maron MS. 2017. Feline Hypertrophic Cardiomyopathy: A Spontaneous Large Animal Model of Human HCM. *Cardiol Res*. 8(4):139–142. doi:10.14740/cr578w.
- Fuentes VL, Johnson L, Dennis S. 2016. *BSAVA Manual of Canine and Feline Cardiorespiratory Medicine*. 2nd Edition. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Furukawa Y, Wallick DW, Martin PJ, Levy MN. 1990. Chronotropic and dromotropic responses to stimulation of intracardiac sympathetic nerves to sinoatrial or atrioventricular nodal region in anesthetized dogs. *Circ Res*. 66(5):1391–1399. doi:10.1161/01.RES.66.5.1391.
- Galati G, Leone O, Pasquale F, Olivotto I, Biagini E, Grigioni F, Pilato E, Lorenzini M, Corti B, Foà A, et al. 2016. Histological and histometric characterization of myocardial fibrosis in end-stage hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Heart Fail*. 9(9). doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.116.003090.
- Hamlin R. 2000. *Cardiovascular Physiology*. In: *Small Animal Cardiology Secrets*. 1st Edition. Philadelphia: Hanley & Belfus, Inc. p. 17–24.

- Hata Y, Ichimata S, Yamaguchi Y, Hirono K, Oku Y, Ichida F, Nishida N. 2019. Clinicopathological and genetic profiles of cases with myocyte disarray—investigation for establishing the autopsy diagnostic criteria for hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Med.* 8(4). doi:10.3390/jcm8040463.
- Hughes SE. 2004. The pathology of hypertrophic cardiomyopathy. *Histopathology.* 44(5):412–427. doi:10.1111/j.1365-2559.2004.01835.x.
- James R, Guillot E, Garelli-Paar C, Huxley J, Grassi V, Cobb M. 2018. The SEISICAT study: a pilot study assessing efficacy and safety of spironolactone in cats with congestive heart failure secondary to cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology.* 20(1):1–12. doi:10.1016/j.jvc.2017.11.001.
- Johnson L, Luis Fuentes V. 2016. History and physical examination. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Cardiorespiratory Medicine.* 2nd Edition. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p. 28–32.
- Joshua J, Caswell J, Lynne O Sullivan M, Wood G, Fonfara S. 2023. Feline myocardial transcriptome in health and in hypertrophic cardiomyopathy A translational animal model for human disease. *PLoS One.* 18(3 March). doi:10.1371/journal.pone.0283244.
- Keam SJ. 2022. Mavacamten: First Approval. *Drugs.* 82(10):1127–1135. doi:10.1007/s40265-022-01739-7.
- Kienle R. 2008. Feline Cardiomyopathy. In: *Manuel of Canine and Feline Cardiology.* Fourth Edition. Saunders Elsevier. p. 151–163.
- King JM, Roth-Johnson L, Dodd DC, Newsom ME. 2014. Hypertrophic Cardiomyopathy. In: *The Necropsy Book: A Guide for Veterinary Students, Residents, Clinicians, Pathologists, and Biological Researchers.* Cornell: The Internet-First University Press. p. 195.
- Kittleson MD, Côté E. 2021. The Feline Cardiomyopathies: 2. Hypertrophic cardiomyopathy. *J Feline Med Surg.* 23(11):1028–1051. doi:10.1177/1098612X211020162.
- Kittleson MD, Meurs KM, Munro MJ, Kittleson JA, Liu S-K, Pion PD, Towbin JA. 1999. Familial Hypertrophic Cardiomyopathy in Maine Coon Cats An Animal Model of Human Disease. <http://www.circulationaha.org>.
- Kitz S, Fonfara S, Hahn S, Hetzel U, Kipar A. 2019. Feline Hypertrophic Cardiomyopathy: The Consequence of Cardiomyocyte-Initiated and Macrophage-Driven Remodeling Processes? *Vet Pathol.* 56(4):565–575. doi:10.1177/0300985819837717.
- Kvart C. 2016. Clinical approach to cardiac murmurs. In: *BSAVA Manual of Canine nad Feline Cardiorespiratory Medicine.* 2nd Edition. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p. 20–27.
- Langhorn R, Tarnow I, Willesen JL, Kjelgaard-Hansen M, Skovgaard IM, Koch J. 2014. Cardiac Troponin I and T as Prognostic Markers in Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Vet Intern Med.* 28(5):1485–1491. doi:10.1111/jvim.12407.
- Layland J, Solaro RJ, Shah AM. 2005. Regulation of cardiac contractile function by troponin I phosphorylation. *Cardiovasc Res.* 66(1):12–21. doi:10.1016/j.cardiores.2004.12.022.

- Liu S-K, Maron BJ, Tilley LP. Feline Hypertrophic Cardiomyopathy Gross Anatomic and Quantitative Histologic Features.
- Luis Fuentes V, Abbott J, Chetboul V, Côté E, Fox PR, Häggström J, Kittleson MD, Schober K, Stern JA. 2020. ACVIM consensus statement guidelines for the classification, diagnosis, and management of cardiomyopathies in cats. *J Vet Intern Med.* 34(3):1062–1077. doi:10.1111/jvim.15745.
- Maron BJ, Fox PR. 2015. Hypertrophic cardiomyopathy in man and cats. *Journal of Veterinary Cardiology.* 17:S6–S9. doi:10.1016/j.jvc.2015.03.007.
- Maron BJ, Henry WL, Roberts WC, Epstein SE. 1977. Comparison of echocardiographic and necropsy measurements of ventricular wall thicknesses in patients with and without disproportionate septal thickening. *Circulation.* 55(2):341–346. doi:10.1161/01.CIR.55.2.341.
- Marston S, Pinto JR. 2023. Suppression of lusitropy as a disease mechanism in cardiomyopathies. *Front Cardiovasc Med.* 9. doi:10.3389/fcvm.2022.1080965.
- März I, Wilkie LJ, Harrington N, Payne JR, Muzzi RAL, Häggström J, Smith K, Luis Fuentes V. 2015. Familial cardiomyopathy in Norwegian Forest cats. *J Feline Med Surg.* 17(8):681–691. doi:10.1177/1098612X14553686.
- Monti F, Dawodu AA, Giglio V, Lanti M, del Monte F, Sugimoto S, Terracciano CM, Schiariti M, Puddu PE, Campa PP. 1992. [The inotropic and bathmotropic effects of beta stimulation: a study comparing dobutamine and dopamine on the guinea-pig papillary muscle in isotonic contraction]. *Cardiologia.* 37(9):635–9.
- Novo Matos J, Pereira N, Glaus T, Wilkie L, Borgeat K, Loureiro J, Silva J, Law V, Kranjc A, Connolly DJ, et al. 2018. Transient Myocardial Thickening in Cats Associated with Heart Failure. *J Vet Intern Med.* 32(1):48–56. doi:10.1111/jvim.14897.
- Oyama M. 2016. Heart failure. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Cardiorespiratory Medicine.* 2nd Edition. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p. 112–120.
- Oyama M, Vaden S, Atkins C. 2017. Heart Disease and Kidney Disease. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the Dog and the Cat.* Eight Edition. p. 5253–5258.
- Payne J, Luis Fuentes V, Boswood A, Connolly D, Koffas H, Brodbelt D. 2010. Population characteristics and survival in 127 referred cats with hypertrophic cardiomyopathy (1997 to 2005). *Journal of Small Animal Practice.* 51(10):540–547. doi:10.1111/j.1748-5827.2010.00989.x.
- Ross M, Pawlina W. 2016. Sistema Cardiovascular. In: *Ross Histologia. Texto e Atlas. Correlações com Biologia Celular e Molecular.* 7ª edição. Guanabara Koogan. p. 409–412.
- Saba SG, Makaryus JN, Rahmani N, Jadonath R. 2017. Histologic Sequelae of Apical Hypertrophic Cardiomyopathy: Dystrophic Calcification. *Clin Med Insights Cardiol.* 11. doi:10.1177/1179546817710934.
- Sharpe Ashley N, Oldach MS, Kaplan JL, Rivas V, Kovacs SL, Hwee DT, Morgan BP, Malik FI, Harris SP, Stern JA. 2023. Pharmacokinetics of a single dose of Aficamten (CK-

- 274) on cardiac contractility in a A31P MYBPC3 hypertrophic cardiomyopathy cat model. *J Vet Pharmacol Ther.* 46(1):52–61. doi:10.1111/jvp.13103.
- Sharpe Ashley N, Oldach MS, Rivas VN, Kaplan JL, Walker AL, Kovacs SL, Hwee DT, Cremin P, Morgan BP, Malik FI, et al. 2023. Effects of Aficamten on cardiac contractility in a feline translational model of hypertrophic cardiomyopathy. *Sci Rep.* 13(1):32. doi:10.1038/s41598-022-26630-z.
- Sharpe Ashley N., Oldach MS, Rivas VN, Kaplan JL, Walker AL, Kovacs SL, Hwee DT, Cremin P, Morgan BP, Malik FI, et al. 2023. Effects of Aficamten on cardiac contractility in a feline translational model of hypertrophic cardiomyopathy. *Sci Rep.* 13(1). doi:10.1038/s41598-022-26630-z.
- Smith VE, Katz AM. 1983. Inotropic and lusitropic abnormalities in the genesis of heart failure. *Eur Heart J.* 4(suppl A):7–17. doi:10.1093/eurheartj/4.suppl\_A.7.
- Spalla I, Locatelli C, Riscazzi G, Santagostino S, Cremaschi E, Brambilla P. 2016. Survival in cats with primary and secondary cardiomyopathies. *J Feline Med Surg.* 18(6):501–509. doi:10.1177/1098612X15588797.
- Stephenson R. 2012a. Overview of Cardiovascular Function. In: *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology.* 5th Edition. Saint Louis: Elsevier Saunders. p. 158–170.
- Stephenson R. 2012b. Integrated Cardiovascular Responses. In: *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology.* 5th Edition. Saint Louis: Saunders Elsevier. p. 252–262.
- Stephenson R. 2012c. Neural and Hormonal Control of Blood Pressure and Blood Volume. In: *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology.* 5th Edition. Saint Louis: Saunders Elsevier. p. 243–252.
- Stephenson RB. 2012. Electrical Activity of the Heart. In: *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology.* 5th Edition. Saint Louis: Saunders Elsevier. p. 171–187.
- Stepien R. 2010. Blood pressure measurement. In: *British Small Animal Veterinary Association.* 2nd Edition. Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association. p. 103–107.
- Stern JA, Markova S, Ueda Y, Kim JB, Pascoe PJ, Evanchik MJ, Green EM, Harris SP. 2016. A Small Molecule Inhibitor of Sarcomere Contractility Acutely Relieves Left Ventricular Outflow Tract Obstruction in Feline Hypertrophic Cardiomyopathy. *PLoS One.* 11(12):e0168407. doi:10.1371/journal.pone.0168407.
- Sugiura K, Kubo T, Ochi Y, Miyagawa K, Baba Y, Noguchi T, Hirota T, Yamasaki N, Doi YL, Kitaoka H. 2022. Very long-term prognosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy: a longitudinal study with a period of 20 years. *ESC Heart Fail.* 9(4):2618–2625. doi:10.1002/ehf2.13983.
- Teixeira MSFSO 2023. *Cardiomiopatia hipertrófica felina-estudo transversal retrospectivo a propósito de 78 casos.* [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV-Universidade de Lisboa.
- Tejado BSM, Jou C. 2018. Histopathology in HCM. In: *Global Cardiology Science and Practice.* Vol. 2018. HBKU Press.
- Tilley LP. 2008. *Manual of Canine and Feline Cardiology.* Elsevier Saunders.

- Tracy RE, Sander GE. 2011. Histologically measured cardiomyocyte hypertrophy correlates with body height as strongly as with body mass index. *Cardiol Res Pract.* 1(1). doi:10.4061/2011/658958.
- Trehiou-Sechi E, Tissier R, Gouni V, Misbach C, Petit AMP, Balouka D, Carlos Sampedrano C, Castaignet M, Pouchelon J -L., Chetboul V. 2012. Comparative Echocardiographic and Clinical Features of Hypertrophic Cardiomyopathy in 5 Breeds of Cats: A Retrospective Analysis of 344 Cases (2001–2011). *J Vet Intern Med.* 26(3):532–541. doi:10.1111/j.1939-1676.2012.00906.x.
- White AJM. 2015. End-stage hypertrophic cardiomyopathy in a cat. *Can Vet J.* 56(5):509–11.
- Wilkie LJ, Smith K, Luis Fuentes V. 2015. Cardiac pathology findings in 252 cats presented for necropsy: A comparison of cats with unexpected death versus other deaths. *Journal of Veterinary Cardiology.* 17:S329–S340. doi:10.1016/j.jvc.2015.09.006.
- Willis R. 2016. Electrocardiography and ambulatory monitoring. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Cardiorespiratory Medicine.* 2nd Edition. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p. 67–73.
- Young B, O'Dowd G, Woodford P. 2013. Muscle. In: *Wheater's Functional Histology. A Text and Colour Atlas.* 6th Edition. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier. p. 101–121.
- Zachary J. 2021. Diseases of Cats. In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease.* 7th Edition. Saint Louis: Elsevier.
- Zampieri M, Berteotti M, Ferrantini C, Tassetti L, Gabriele M, Tomberli B, Castelli G, Cappelli F, Stefano P, Marchionni N, et al. 2021. Pathophysiology and Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy: New Perspectives. *Curr Heart Fail Rep.* 18(4):169–179. doi:10.1007/s11897-021-00523-0.

## 8. Anexos

### Anexo 1: Protocolo Experimental das medições macroscópicas “postmortem”.

1. Excisão do coração de Gato, pelas emergências dos vasos sanguíneos torácicos principais.
2. Pesagem do coração. Divisão das amostras em dois grupos: grupo controlo (corações < 17 gramas, no cenário 1, ou corações < 20 gramas, no cenário 2) e grupo doente/HCM (corações ≥ 17 gramas, no cenário 1, ou corações ≥ 20 gramas, no cenário 2).
3. Realizar um corte longitudinal ao nível do átrio esquerdo, de forma a obter uma visualização de toda a área interna semicircular.
4. Cortando aorta na sua emergência e segundo o seu eixo menor, medir o seu diâmetro, de modo a fazer o rácio entre átrio esquerdo e aorta ( $diAE:dAo$ ).

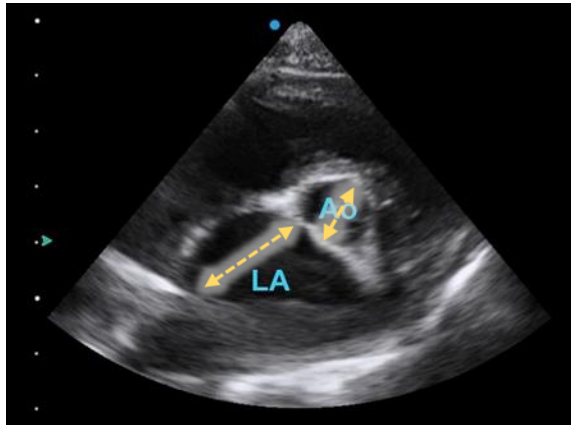


Figura adaptada de: <https://www.animalultrasoundassociation.org/laao-echo-essential-or-fundamentally-flawed/>, acedida a 16/05/2024.

5. Corte segundo o plano que interseja os átrios esquerdo e direito, com auxílio de pinças, como está na figura.

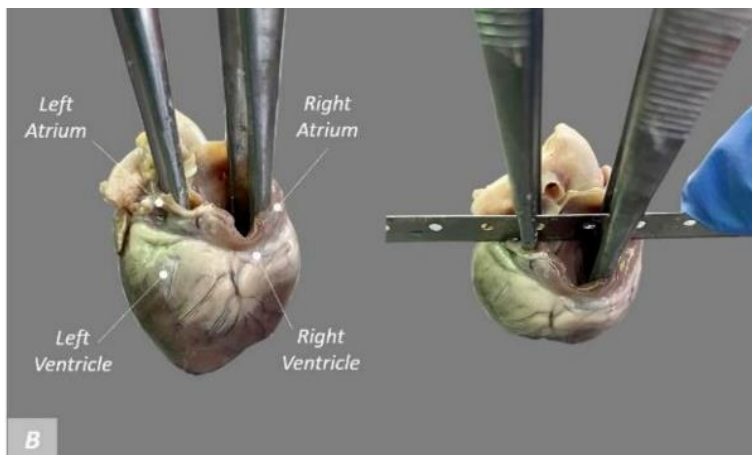


Figura adaptada de: <https://app.jove.com/v/63809/dissection-techniques-and-histological-sampling-of-the-heart-in-large-animal-models-for-cardiovascular-diseases?trialstart=1>, acedida a 16/05/2024

4. Medição da espessura da parede livre e diâmetro interno (maior) do ventrículo esquerdo em “postmortem” (**ePLVE** e **diVE**) e do septo interventricular “post mortem” (**eSIV**), com o plano de corte obtido no ponto 3. O **diVE** é medido no mesmo plano da área onde se mede o **ePLVE** e onde “pareça” que tem lúmen mais amplo/largo (não há localização anatômica específica para o Diâmetro Interno):

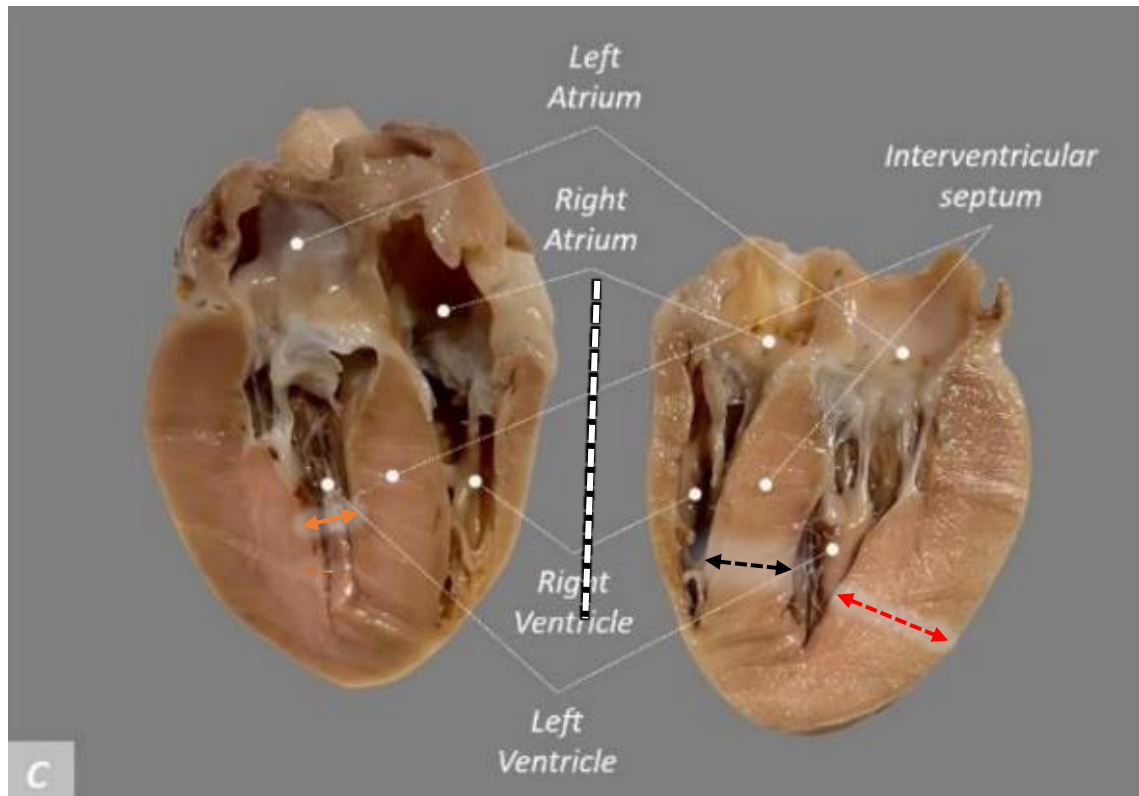


Figura adaptada de: <https://app.jove.com/v/63809/dissection-techniques-and-histological-sampling-of-the-heart-in-large-animal-models-for-cardiovascular-diseases?trialstart=1>, acessada a 16/05/2024

## Anexo 2: **Protocolo experimental Imunohistoquímica para cTnI.**

O protocolo utilizado foi o seguinte:

- I. Corte do preparado em bolcos de parafina, de espessura de 3  $\mu\text{m}$ , e preparação de lâminas no dia anterior ao do processamento de IHC.
- II. Recuperação do Ag com tampão Tris-EDTA, segundo a sequência:
  - i. Preparação de solução com EnVision FLEX Target Retrieval Solution (50x), com concentração de 1:50 em água destilada ou desionizada.
  - ii. Colocar as lâminas na solução de EnVision FLEX Target Retrieval Solution diluído (contém tris-EDTA) e incubar a 97°C, durante 20 minutos.
  - iii. Deixar arrefecer as amostras até alcançar 65°C no aparelho de processamento (PT Link). Depois, deixar mais 20 a 30 minutos a arrefecer, com circulação de ar com o ambiente do laboratório, para ficar a temperatura tolerável à manipulação manual.
  - iv. Remover cada lâmina do PT Link e colocar imediatamente no depósito de +água destilada.
  - v. Deixar as lâminas em água destilada, durante 5 minutos, duas vezes seguidas.
- III. Aplicação de peróxido de hidrogénio a 3%, durante 15 minutos.
- IV. Colocar as lâminas durante 5 minutos com PBS, duas vezes consecutivas.
- V. Em câmara húmida, incubar os tecidos com uma concentração de 1:100 (i.e, 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de 1HCLC, em diluente, passando a concentração inferior, de 1:100 ou 1:150, durante 1 hora.
- VI. Incubação da amostra.
- VII. Utilização adaptada do FLEX+Rabbit 2x5 DAB, ou seja:
  - i. Detecção de AC primário com a Ac secundário anti-IgG de Coelho com o polímero de peroxidase, EnVision, durante 30 minutos.
  - ii. Diluição e revelação com diaminobenzidina (DAB) com cromogénio, em solução de peróxido de hidrogénio.
- VIII. Contraste com Hematoxilina de Eris, durante 5 minutos.
- IX. Sequência de lavagens:
  - i. 3 lavagens em água canalizada ou corrente.
  - ii. 1 lavagem em álcool a 70%, durante 1 a 2 minutos.
  - iii. 1 lavagem em álcool a 96%, durante 1 a 2 minutos
  - iv. 1 lavagem em álcool a 100% durante 1 minuto.
  - v. Repetição do passo iv.
  - vi. 1 lavagem em xilol a 100% durante 1 minuto.
  - vii. Repetição do passo vi.
- X. Aplicação de meio de montagem não aquoso (neste caso, resina sintética Entelan®).

Anexo 3: “Poster” apresentado no “AL4Animals Thematic Meeting – Comparative and Translational Medicine and Biotechnology”, que decorreu a 20 e 21 de outubro de 2023

**Abstract**

**Keywords:** Hypertrophic cardiomyopathy; Feline; Cardiomyocyte; Morphometry

**Introduction:** Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is a disease with a complex etiopathogenesis involving several complicating factors. It is the most common cardiac disease in cats, resulting in an increase in absolute and relative heart weight in association with a hypertrophied left ventricle; (Luis Fuentes et al., 2020; Novo Matos et al., 2018; Wilkie et al., 2015); this is in many ways similar to HCM in humans. For this reason, feline HCM has often been used as a model for its counterpart in humans, both in studies regarding the pathophysiology of the disease and in pharmaceutical trials (Fox et al. 2014; Freeman et al. 2017). Although there is an ever-growing body of knowledge regarding the pathophysiology and progression of HCM in humans, as well as regarding treatment options and prognostic factors, there are still several gaps in knowledge regarding feline HCM; this is so, despite the similarities and potential of therapeutic molecules developed for human beings (and tested in cat models of the disease) to be effective in treating feline HCM (Ferguson et al. 2020b; Ashley N. Sharpe et al. 2023).

Therefore, this morphometric study aims to determine the standard range of dimensions of cardiomyocytes in healthy feline hearts versus in hearts with HCM, adding to the toolbox available to veterinary pathologists, in cases where HCM is the suspected cause of death.

**Materials and Methods:** A total of 23 feline hearts were collected during “postmortem” examinations performed at the Pathology Laboratory of FMV-ULisboa. These hearts were divided into two groups, based on total heart weight: a control group (n= 8) and an HCM group (n=15). Samples of right ventricular free wall (RVFW), left ventricular free wall (LVFW) and interventricular septum (IVS) were collected, fixed in 10% neutral buffered formalin, and processed for routine histopathology. For each sample, 3 µm-thick sections (3 sections/heart) were prepared and stained with Hematoxylin-Eosin and Masson's Trichrome.

For each section, cardiomyocyte dimensions were assessed as an average of the length of the shorter axis of 240 cardiomyocytes/area (RVFW, LVFW and IVS) on cross-section, multiplied by a 1.048 correction factor, as described by Tracy & Sander (2011). In the cases which longitudinal section was the major view to measure cardiomyocyte dimensions, respective correction factors were used, as described by the referred authors.

**Results:**

For the control group, mean values of cardiomyocyte breadth were: RVFW – 8.62 µm (±1.66 Standard Deviation (SD)); LVFW – 9.24 µm (±1.24 SD); and IVS – 9.20 µm (±1.56 SD). For the HCM group, mean values were: RVFW – 11.24 µm (±2.11 SD); LVFW – 11.27 µm (±2.52 SD); and IVS – 11.35 µm (±1.76 SD). For all areas, there was a statistically significant difference between the control and HCM groups (P value<0,05). Furthermore, “Cohen’s d” was above 0.8 for all areas. Notwithstanding, there is an evident overlap between the range of cardiomyocyte breadth (Mean ± 2\*SD) for the two groups, particularly in the RVFW and LVFW.

**Discussion and Conclusions:**

The statistically significant differences found indicate that, as previously described in humans, cardiomyocyte breadth is increased in feline HCM. However, the small sample size constitutes a limitation of this study, as it may fail to capture the variation expected in cardiomyocyte breadth in both healthy and diseased hearts; this is particularly problematic in the control group. As such, further studies are necessary, to increase the number of samples and build a more robust normal distribution, that can be drawn upon when standardizing reliable reference intervals.

In summary, this study demonstrates a strong potential for the use of cardiomyocyte breadth analysis (alongside other histopathological changes) in diagnosing HCM in suspected or dubious cases, especially when only postmortem samples are available, such as in forensic cases.

## Revisiting Morphometric Studies in Translational Medicine: The case of Feline Hypertrophic Cardiomyopathy

J.F. Lopes<sup>1\*</sup>; R.M. Máximo<sup>2</sup>, R. Noiva<sup>3, 4</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Av. Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa

<sup>2</sup>Hospital Escolar Veterinário, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Av. Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa

<sup>3</sup>CIISA – Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Av. Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa

<sup>4</sup>Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences (AL4Animals)

\* Corresponding author: jfc35311@gmail.com



### Introduction

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is a disease with a complex etiopathogenesis involving several complicating factors. It is the most common cardiac disease in cats, resulting in an increase in absolute and relative heart weight in association with a hypertrophied and nondilated left ventricle; this is in many ways similar to HCM in humans. Although there is a vast and ever-growing body of knowledge regarding the pathophysiology and progression of HCM in humans, as well as regarding treatment options and prognostic factors, there are still several gaps in knowledge regarding feline HCM.

Therefore, this morphometric study aims to determine the standard range of dimensions of cardiomyocytes in healthy feline hearts versus in hearts of cats with HCM, adding to the toolbox available to veterinary pathologists.

### Materials and Methods

A total of 23 feline hearts were collected during "postmortem" examinations performed at the Pathology Laboratory of FMV-ULisboa. These hearts were divided into two groups: a control group (n= 8) and a HCM group (n=15). Samples of right ventricular free wall (RVFW), left ventricular free wall (LVFW) and interventricular septum (IVS) (Fig 1) were collected, fixed in 10% neutral buffered formalin, and processed for routine histopathology. For each sample, 3 µm-thick sections (3 sections/heart) were prepared and stained with Hematoxylin-Eosin and Masson's Trichrome (Fig 2).

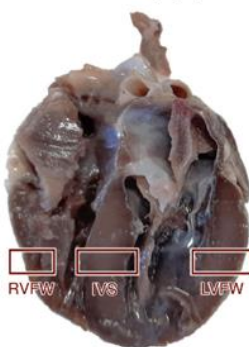


Fig 1: Gross section of the heart along the long axis with sampling areas indicated (boxes) (original).

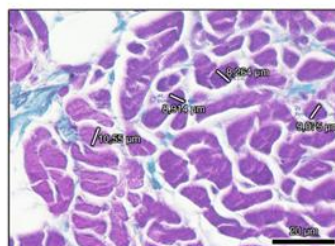


Fig 2: Measurement of cardiomyocyte breadth (Masson's Trichrome, 400x) (original)

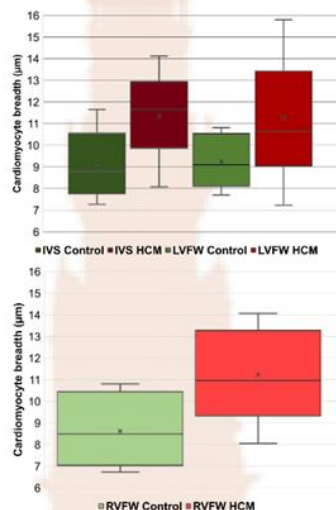


Fig 3: Whisker box graphs of cardiomyocyte breadth per area in study.

### Results

For all areas, there was a statistically significant difference between the control and HCM groups (P value<0,05) (Fig 3). Furthermore, "Cohen's d" was above 0.8 for all areas. Notwithstanding, there is an evident overlap between the range of cardiomyocyte breadth (Mean ± 2\*SD) for the two groups, particularly in the RVFW and LVFW.

### Conclusion and Discussion

The statistically significant differences found indicate that, as previously described in humans, cardiomyocyte breadth is increased in feline HCM. However, the small sample size constitutes a limitation of this study, as it may fail to capture the variation expected in cardiomyocyte breadth in both healthy and diseased hearts; particularly in the control group. As such, further studies are necessary to build a more robust normal distribution, that can be drawn upon when standardizing reliable reference intervals.

In summary, this study demonstrates a strong potential for the use of cardiomyocyte breadth analysis in diagnosing HCM in suspected or dubious cases, especially when only postmortem samples are available, such as in forensic cases.

### References

- Fox, P. R., Basso, C., Thiene, G., & Maron, B. J. (2014). Spontaneously occurring restrictive nonhypertrophied cardiomyopathy in domestic cats: a new animal model of human disease. *Cardiovascular Pathology*, 23(1), 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2013.08.001>
- Freeman, L. M., Rush, J. E., Stern, J. A., Huggins, G. S., & Maron, M. S. (2017). Feline Hypertrophic Cardiomyopathy: A Spontaneous Large Animal Model of Human HCM. *Cardiology Research*, 8(4), 139–142. <https://doi.org/10.14740/cr578w>
- Luis Fuentes, V., Abbott, J., Chetboul, V., Collé, E., Fox, P. R., Häggström, J., Kittleson, M. D., Schober, K., & Stern, J. A. (2020). ACVIM consensus statement guidelines for the classification, diagnosis, and management of cardiomyopathies in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 54(3), 1062–1077. <https://doi.org/10.1111/jvim.15745>
- Novo Malos, J., Pereira, N., Glaus, T., Wilke, L., Borgeat, K., Loureiro, J., Silva, J., Law, V., Kranjc, A., Connolly, D. J., & Luis Fuentes, V. (2018). Transient Myocardial Thickening in Cats Associated with Heart Failure. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 52(1), 48–56. <https://doi.org/10.1111/jvim.14897>
- Tracy, R. E., & Sander, G. E. (2011). Histologically measured cardiomyocyte hypertrophy correlates with body height as strongly as with body mass index. *Cardiology Research and Practice*, 1(1). <https://doi.org/10.4061/2011.050908>
- Wilke, L. J., Smith, K., & Luis Fuentes, V. (2015). Cardiac pathology findings in 252 cats presented for necropsy: A comparison of cats with unexpected death versus other deaths. *Journal of Veterinary Cardiology*, 17, S329–S340. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2015.09.006>

We acknowledge the FMV- Pathology Laboratory and its technical staff for the preparation of slides and special stains for this study. This study has been funded by CIISA and by the Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences (AL4Animals): UIDB/00276/2020 and LA/P/0059/2020.