



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

INVESTIGAÇÃO SOBRE A CONTRIBUIÇÃO DO SNAP® FELINE ProBNP TEST COMO FERRAMENTA DE  
DIAGNÓSTICO NA CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA FELINA

FILIPA DE SOUSA DIAS VICTORIA

CONSTITUIÇÃO DO JURÍ

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira  
Dias

Doutora Maria Rita Martins Garcia  
da Fonseca

Dr. André Sousa Santos

ORIENTADOR

Dr. André Sousa Santos

CO-ORIENTADOR

Doutor José Paulo Sales Luís

2019

LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

INVESTIGAÇÃO SOBRE A CONTRIBUIÇÃO DO SNAP® FELINE ProBNP TEST COMO FERRAMENTA DE  
DIAGNÓSTICO NA CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA FELINA

FILIPA DE SOUSA DIAS VICTORIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JURÍ

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira  
Dias

Doutora Maria Rita Martins Garcia  
da Fonseca

Dr. André Sousa Santos

ORIENTADOR

Dr. André Sousa Santos

CO-ORIENTADOR

Doutor José Paulo Sales Luís

2019

LISBOA

---

*“Matar o sonho é matarmo-nos. É mutilar a nossa alma. O sonho é o que temos de realmente nosso, de impenetravelmente e inexpugnavelmente nosso.”*

Fernando Pessoa



## AGRADECIMENTOS

Obrigada ao meu orientador, Dr. André Santos, por me conceder a oportunidade de realizar o estágio de final de curso no Hospital Veterinário do Restelo e por me ter auxiliado em todos os aspetos referentes à escrita desta dissertação.

Obrigada ao meu co-orientador, Professor Dr. Sales Luís, por ter aceitado ajudar-me a elaborar este trabalho e por estar sempre disponível para me auxiliar em qualquer ocasião.

Um grande obrigada aos laboratórios IDEXX por terem colaborado comigo neste estudo, uma vez que sem a sua colaboração teria sido impossível.

Obrigada a todos os professores e pessoas da FMV por todo o incentivo a que me torne a melhor veterinária que posso ser, especialmente ao Professor Telmo pela paciência e serenidade em ajudar-me em toda a parte estatística deste estudo.

Obrigada ao Dr. Jorge Cid, pela receção calorosa no Hospital Veterinário do Restelo e por mostrar sempre disponibilidade para ajudar e colaborar com os estagiários.

Obrigada à Dra. Ana Dinis por toda a ajuda e todas as conversas que sem dúvida me orientaram muito neste percurso.

Obrigada a todas as pessoas do HVR por terem sido sempre excecionais comigo e por terem partilhado todos os conhecimentos imprescindíveis à minha formação.

Um forte obrigada à minha família pelo apoio incondicional ao longo do meu percurso académico. Um profundo e terno obrigada aos meus pais e à minha irmã por exaltarem os meus sonhos e tranquilizarem os meus desassossegos. Obrigada à minha irmã e ao Francisco por todas as horas esquecidas a elucidar-me sobre os mistérios da medicina.

Um obrigada ao Jota e ao Woody por serem aqueles que me acompanham todos os dias neste caminho desafiante e aventureiro.

E, por último, obrigada aos meus bons amigos por caminharem e “me desencaminharem ao meu lado”!

Um grande obrigada.



# INVESTIGAÇÃO SOBRE A CONTRIBUIÇÃO DO SNAP® FELINE ProBNP TEST COMO FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO NA CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA FELINA

## RESUMO

Dentro do leque de doenças cardíacas felinas, a cardiomiopatia hipertrófica assume um papel preponderante e diversas são as etiologias que lhe dão origem. Para além da ecocardiografia que é o exame de diagnóstico *gold standard*, têm vindo a emergir novos exames que podem ajudar a orientar o diagnóstico na ausência ou na impossibilidade de realizar uma ecocardiografia. A quantificação dos biomarcadores cardíacos, como as troponinas e os peptídeos natriuréticos, assume esse papel. Com efeito, o SNAP® Feline proBNP Test é um teste rápido cuja função se prende na quantificação do peptídeo natriurético mais relevante – o NT-proBNP. Os principais objetivos deste projeto foram comprovar se o SNAP® Feline proBNP Test identifica corretamente gatos com cardiomiopatia hipertrófica, estudar a relação entre os resultados do SNAP® Feline proBNP Test com os parâmetros ecocardiográficos avaliados na cardiomiopatia hipertrófica felina e verificar se o hipertiroidismo, a hipertensão arterial sistémica e a doença renal crónica condicionam a positividade do SNAP® Feline proBNP Test. Para tal foram efetuadas ecocardiografias nos 21 gatos que constituíram a amostra e parte do sangue obtido para a realização de análises sanguíneas foi utilizada para realizar o SNAP® Feline proBNP Test. As únicas variáveis que estabeleceram uma associação estatística com o SNAP® Feline proBNP Test foram a PPVEd (parede posterior do ventrículo esquerdo em telediástole) ( $p = 0.0413$ ) e o *ratio* AE / Ao (*ratio* átrio esquerdo com a aorta) ( $p = 0.00539$ ). A sensibilidade do teste neste estudo foi consideravelmente baixa (31.2 %), portanto a habilidade do teste em identificar gatos com cardiomiopatia hipertrófica neste projeto foi de alguma maneira questionável. Em contraste, a sua especificidade foi de 100 %, o que corrobora o seu potencial. De facto, como defende a literatura, o SNAP® Feline proBNP Test tem potencialidade para auxiliar num diagnóstico de cardiomiopatia hipertrófica assintomática, para detetar gatos com cardiomiopatia moderada a grave e para distinguir a etiologia de sinais respiratórios em gatos, justificando portanto uma investigação mais extensa.

**Palavras-chave:** cardiomiopatia hipertrófica, SNAP® Feline proBNP Test, ecocardiografia, biomarcadores cardíacos, felinos



# INVESTIGATION ABOUT THE CONTRIBUTION OF THE SNAP® FELINE ProBNP TEST AS A DIAGNOSTIC EXAM IN THE FELINE HYPERTROPHIC CARDIOMIOPATHY

## ABSTRACT

Within the range of feline heart diseases, hypertrophic cardiomyopathy plays a predominant role and there are different etiologies that give rise to this disease. Echocardiography is the gold standard exam. However, new diagnostic exams have been emerging that can help in the diagnosis in situations when it is not possible to perform an echocardiography. The quantification of troponins and natriuretic peptides takes on that role. As a result, the SNAP® Feline proBNP Test was launched on the market and its main purpose is to measure the most important natriuretic peptide – NT-proBNP. The main goals of this project were to assess if the SNAP® Feline proBNP Test correctly identifies cats with hypertrophic cardiomyopathy, to study the relationship between the results of the SNAP® Feline proBNP Test and the results from ecocardiographic exams and to verify if hyperthyroidism, high blood pressure and chronic kidney disease contribute for a positive result of the SNAP® Feline proBNP Test. For such, echocardiography exams were performed on the 21 cats that were included in the study. Blood samples were collected aiming to perform biochemical and hematological analysis and SNAP® Feline proBNP Test. The only variables that had a significant result were the LVPWd (left ventricular posterior wall thickness at end diastole) ( $p = 0.0413$ ) and the AE / Ao *ratio* (left atrium to aortic root *ratio*) ( $p = 0.00539$ ). The sensitivity of the test was considerably low (31.2 %), therefore its ability to correctly identify cats with hypertrophic cardiomyopathy was questionable. In contrast, the specificity of the study was 100 %, which corroborates its potential. In fact, as the literature advocates, the SNAP® Feline proBNP Test has the ability to help the diagnosis of asymptomatic cardiomyopathy, to differentiate cats with moderate to severe cardiomyopathy and to distinguish the etiology of respiratory clinical signs in felines. Therefore, a more extensive investigation must be performed.

**Key-words:** hypertrophic cardiomyopathy, SNAP® Feline proBNP Test, ecocardiography, cardiac biomarkers, felines



## INDICE GERAL

<b>1. NOTA INTRODUTÓRIA .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>3</b>
2.1. Cardiomiopatias Felinas .....	3
2.1.1. Cardiomiopatia Hipertrófica Felina .....	6
2.1.1.1. Epidemiologia .....	6
2.1.1.2. Etiologia.....	7
2.1.1.3. Fisiopatologia .....	10
2.1.1.4. Diagnóstico.....	12
2.1.1.4.1. Quadro clínico.....	12
2.1.1.4.2. Exames complementares de diagnóstico .....	13
2.1.1.4.2.1. Eletrocardiografia.....	13
2.1.1.4.2.2. Radiologia .....	13
2.1.1.4.2.3. Ecocardiografia.....	14
2.1.1.4.2.4. Marcadores bioquímicos cardíacos como método de diagnóstico.....	18
2.1.1.4.2.4.1. Utilidade do NT-proBNP na detecção da Cardiomiopatia Hipertrófica Felina.....	25
<b>3. INVESTIGAÇÃO SOBRE A CONTRIBUIÇÃO DO SNAP® Feline proBNP Test COMO FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO NA CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA FELINA .....</b>	<b>27</b>
3.1. Objetivos .....	27
3.2. Materiais e Métodos .....	28
3.3. Resultados .....	31
3.4. Discussão de Resultados .....	39
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>46</b>



## ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA – Análise de variância

ANP – Peptídeo natriurético atrial ou tipo-A / Fragmento ativo C-terminal do peptídeo natriurético atrial ou tipo-A

BNP – Peptídeo natriurético cerebral ou tipo-B / Fragmento ativo C-terminal do peptídeo natriurético cerebral ou tipo-B

CK – Creatinina cinase

CMAVD – Cardiomiopatia arritmogénica do ventrículo direito

CMD – Cardiomiopatia dilatada

CMH – Cardiomiopatia hipertrófica

CMNC – Cardiomiopatia não classificada

CMR – Cardiomiopatia restritiva

CNP – Peptídeo natriurético tipo-C

CRP – Proteína plasmática C-reativa

cTnI – Troponina I

cTnT – Troponina T

DDVM – Doença degenerativa da válvula mitral

DNP – Peptídeo natriurético tipo-D

DS – Dorsoventral

EAS – Estenose aórtica subvalvular

hFABP - Proteína ligante de ácidos gordos cardíaca

HVR – Hospital Veterinário Restelo

IMA - Albumina modificada pela isquémia

LDH – Lactato desidrogenase

LVPWd - left ventricular posterior wall thickness at end diastole

m-RNA – Ácido ribonucleico mensageiro

MYBPC3 - *Cardiac myosin binding protein C*

NP – Peptídeo natriurético atrial ou tipo-A ou peptídeo natriurético cerebral ou tipo-B / Fragmento ativo C-terminal do peptídeo natriurético BNP ou ANP

NPR-A – Receptores peptídicos natriuréticos tipo-A

NPR-C – Receptores peptídicos natriuréticos tipo-C

NT-proANP – Fragmento inativo N-terminal do peptídeo natriurético atrial ou tipo-A

NT-proBNP – Fragmento inativo N-terminal do peptídeo natriurético cerebral ou tipo-B

NT-proNP - Fragmento inativo N-terminal do peptídeo natriurético BNP ou ANP

PD - Polidipsia

PPVEd – Espessamento da parede posterior do ventrículo esquerdo em telediástole

pré-proANP – Peptídeo precursor do proANP

pré-proBNP – Peptídeo precursor do proBNP

pré-proNP - Peptídeo precursor do proBNP ou proANP

proANP – Peptídeo precursor do ANP e NT-proANP

proBNP - Peptídeo precursor do BNP e NT-proBNP

proNP – Peptídeo precursor do BNP e NT-proBNP ou ANP e NT-proANP

PU - Poliúria

*ratio* AE / Ao – *ratio* entre os diâmetros do átrio esquerdo e da aorta

SAM – Movimento sistólico anterior da válvula mitral

SIVd – Espessamento do septo interventricular em telediástole

SRAA – Sistema renina-angiotensina-aldosterona

TAC – Tomografia Axial Computorizada

TNF- $\alpha$  – Factor de necrose tumoral- $\alpha$

VD – Ventrodorsal

VHS – Vertebral Heart Scale

VNP – Peptídeo natriurético tipo-V

WHO – *World Health Organization*

$\chi^2$  – Qui-quadrado

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Plano paraesternal longo-eixo em modo bi-dimensional de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando SAM .....	11
Figura 2 - Plano paraesternal longo-eixo em modo bi-dimensional de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando uma hipertrofia simétrica grave .....	17
Figura 3 – Plano paraesternal longo eixo em modo bi-dimensional de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando uma hipertrofia do septo interventricular .....	17
Figura 4 – Plano paraesternal transverso direito da base do coração em modo bi-dimensional de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando uma dilatação atrial grave.....	17
Figura 5 – Plano paraesternal eixo-longo em modo bi-dimensional com <i>Doppler</i> codificado por cor de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando regurgitação mitral secundária à obstrução dinâmica no trato de saída do ventrículo esquerdo causada por SAM .....	17
Figura 6 – Representação da clivagem do pré-proNP em proNP e do proNP em NTproNP e NP .....	20
Figura 7 – Associação entre os valores de referência do Cardiopet™ proBNP Test com o resultado do SNAP® Feline proBNP Test.....	24
Figura 8 – SNAP® Feline proBNP Test com resultado negativo.....	31



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios de diagnóstico ecocardiográfico da cardiomiopatia hipertrófica felina ..	16
Tabela 2 - Valores de referência de NT-proBNP em gatos .....	23
Tabela 3 - Valores de referência de NT-proBNP em cães .....	23
Tabela 4 – Resultados obtidos incluindo o grupo testemunho .....	32
Tabela 5 – Resultados obtidos não incluindo o grupo testemunho .....	33



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Box Plot da variação do parâmetro ecocardiográfico SIVd nas diferentes classes .....	35
Gráfico 2 – Box Plot da variação do parâmetro ecocardiográfico PPVEd nas diferentes classes .....	35
Gráfico 3 – Box Plot da variação do parâmetro ecocardiográfico <i>ratio</i> AE / Ao nas diferentes classes .....	35
Gráfico 4 – Box Plot da variação do parâmetro ecocardiográfico frequência cardíaca nas diferentes classes .....	36
Gráfico 5 – Gráfico de frequências do parâmetro ecocardiográfico SAM nas diferentes classes .....	36
Gráfico 6 – Gráfico de frequências do parâmetro ecocardiográfico fluxo mitral nas diferentes classes .....	37
Gráfico 7 – Gráfico de frequências do parâmetro ecocardiográfico regurgitação mitral nas diferentes classes .....	37



## 1. NOTA INTRODUTÓRIA

Todo o tempo investido neste percurso emocionante, laborioso e árduo que foi o curso de Medicina Veterinária, culminou na exposição escrita deste ponto científico que estabelece bases num estudo sobre o sistema cardiovascular dos felinos. A par desta dissertação, o estágio curricular realizado no Hospital Veterinário do Restelo (HVR) foi, indubitavelmente, uma ferramenta insubstituível para o meu progresso académico, assim como para o desenvolvimento minucioso deste trabalho.

No Hospital Veterinário do Restelo pode encontrar-se um vasto leque de instalações, serviços e pessoal integrante da equipa hospitalar que dão resposta às inúmeras solicitações diárias, acolhendo as pretensões dos proprietários e a sua perspectiva da medicina. Em termos de instalações são encontradas zonas criadas especificamente para a realização de exames complementares de diagnóstico como uma sala de ecografia e ecocardiografia, uma sala de radiologia e uma sala de tomografia axial computadorizada (TAC). Acompanhando estas, são de salientar as duas salas de cirurgia, quatro zonas independentes de internamento distintas para cães, gatos, animais exóticos e animais com doenças infeto-contagiosas. Não menos importantes são os consultórios onde se estabelece o primeiro contacto e toda a harmonia crucial entre o médico, o dono e o paciente, o laboratório, a sala de altas e tratamentos, a unidade de cuidados intensivos e uma sala específica para os tratamentos de hemodiálise. No decorrer dos seis meses de estágio curricular, a casuística principalmente observada prendeu-se em três principais áreas: a clínica cirúrgica, a clínica médica e a de observação da realização dos exames complementares de diagnóstico. Já os principais tipos de consulta caracterizam-se por patologia clínica, reavaliações, exames de rotina, tratamentos e consultas de medicina preventiva. Sendo o Hospital Veterinário do Restelo um hospital de referência, os principais tipos de consulta foram as de patologia clínica. No que diz respeito aos pacientes, o cão e o gato são, evidentemente, os mais frequentes, seguidos dos animais exóticos como o coelho, a tartaruga, a iguana e a chinchila, entre outros. Como já mencionado, sendo o HVR um hospital de referência, existe uma paleta de diferentes especialidades, para as quais existem profissionais extremamente competentes sempre a colmatar todas as adversidades emergentes, entre as quais: neurologia, oftalmologia, nefrologia, cardiologia, oncologia, ortopedia, medicina interna, anestesia e cirurgia, dermatologia, imagiologia, medicinas alternativas e acupuntura, entre outras. É importante fazer uma pequena menção aos principais meios complementares de diagnóstico, uma vez que, frequentemente, são eles que enaltecem o HVR como sendo dos melhores hospitais do país. Entre eles há uma panóplia diversa como: ecografia, radiologia, TAC, ecocardiografia, eletrocardiografia, hematologia e bioquímica, punção aspirativa, raspagem de pele, urianálise, testes rápidos, endoscopia, mielografia e eletrorretinografia, entre outros.

Assim, ao longo do estágio curricular, a preferência pela cardiologia foi nutrida e exacerbada, resultando na escolha dessa área para a elaboração da dissertação de mestrado. Após uma pesquisa exaustiva dos temas já abordados outrora, suscitou a atenção criar um estudo sobre um teste rápido relativamente recente, comumente conhecido como o SNAP® Feline proBNP Test. O SNAP é um teste semi-quantitativo que deteta a presença do fragmento N-terminal do peptídeo natriurético tipo-B ou cerebral (NT-proBNP) em diferentes concentrações no sangue dos felinos. Como será estudado daqui em diante, o NT-proBNP é um peptídeo que se encontrará aumentado no sangue, por ocasião de uma doença cardíaca, nomeadamente na cardiomiopatia hipertrófica felina. Para além dos métodos de diagnóstico complementares imprescindíveis para o diagnóstico desta doença como a ecocardiografia, a radiologia e a eletrocardiografia, o estudo dos biomarcadores cardíacos como método de diagnóstico tem emergido com o progresso da ciência, uma vez que se tratam de proteínas que aumentam a sua concentração sanguínea, em consequência de lesão cardíaca ou de disfunção do miocárdio. De facto, as aplicações deste teste somam alguma relevância, visto que em clínicas onde a ecocardiografia não é possível, a realização do SNAP pode ajudar a orientar o diagnóstico, assim como em situações de *follow-up* de doença é um método mais rápido e facilmente exequível, não esquecendo que o seu emprego em felinos geriátricos que visitam o veterinário para consulta de rotina, poderá ser uma ferramenta que facilita o traçado do perfil de saúde do animal em questão.

Ora, nesta dissertação, estudou-se a associação do teste com as alterações ecocardiográficas presentes nos gatos com cardiomiopatia hipertrófica felina e se o grau de gravidade da cardiomiopatia, bem como outros fatores sistémicos influenciaram o resultado do SNAP® Feline proBNP Test.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O termo cardiomiopatia, teoricamente, designa uma afeção do coração, na qual o músculo cardíaco é primariamente afetado. As cardiomiopatias primárias, estando confinadas ao miocárdio, podem ter uma base idiopática, uma causa genética, uma etiologia adquirida ou uma combinação entre genética e fatores adquiridos – origem mista. Em contraste, as cardiomiopatias secundárias são afeções que mostram o envolvimento do miocárdio como parte de uma alteração sistémica (Beijerink, 2016; MacDonald, 2014). Sempre que uma situação de sobrecarga de volume (e.g.: insuficiência da válvula mitral) ou de pressão (e.g.: estenose subaórtica, hipertensão sistémica) esteja presente, uma resposta compensatória irá progredir, envolvendo um incremento na massa ventricular. Após um período de descompensação as hipertrofias terminam por culminar numa dilatação de todo o músculo cardíaco (Spotnitz & Sonnenblick, 1973; Kittleson & Kienle, 1998). A cardiomiopatia foi inicialmente definida pela *World Health Organization* (WHO) como uma “doença do miocárdio de origem desconhecida, principalmente caracterizada por cardiomegália e insuficiência cardíaca” (Ferasin, 2009, p.3, tradução livre). No entanto, uma nova definição surgiu mais recentemente caracterizando-a como “doença do miocárdio associada a uma disfunção cardíaca” (Ferasin, 2009, p.3, tradução livre). Posteriormente, esta classificação foi também revista pela *American Heart Association* (MacDonald, 2014). Em medicina felina são seguidas muitas das *guidelines* propostas para a medicina humana (MacDonald, 2014; Ferasin, 2009). A cardiomiopatia hipertrófica é a doença cardíaca mais comum em gatos, afetando muitos aparentemente saudáveis e aumentando a sua prevalência com o aumento da idade (Payne, Brodbelt, & Fuentes, 2015).

### 2.1. Cardiomiopatias Felinas

As cardiomiopatias constituem a alteração cardíaca mais comum em gatos, sendo classificadas de acordo com as suas características patofisiológicas através da avaliação do coração por um exame ecocardiográfico. Assim, em medicina felina, são relevantes as seguintes cardiomiopatias: cardiomiopatia hipertrófica (CMH), cardiomiopatia dilatada (CMD), cardiomiopatia restritiva (CMR), cardiomiopatia arritmogénica do ventrículo direito (CMAVD), cardiomiopatia não classificada (CMNC) e, porém sem muitos dados que sustentem a sua prevalência em gatos, cardiomiopatia não compactada (Kittleson & Kienle, 1998; Kittleson, 2014; Orvalho, 2016; MacDonald, 2014). MacDonald (2014) sugere que a CMH é a mais frequente (57.5 %), seguida da CMR (20.7 %), da CMD (10.4 %), da CMNC (10.4 %) e, por último, da CMAVD (< 1 %). De notar que a remodelação cardíaca pode levar a que haja sobreposição das características que definem cada cardiomiopatia, conduzindo a uma distinção por vezes tortuosa e difícil. Por exemplo, a CMH pode progredir de uma forma

não dilatada e hiperdinâmica até uma aparência dilatada com disfunção sistólica (Ferasin, 2009a). O espectro de sinais clínicos das cardiomiopatias varia bastante, podendo haver pacientes sem qualquer sinal clínico e que vivem de forma plena, até a pacientes que acabam por morrer subitamente (Côté, 2015).

### **Cardiomiopatia Restritiva**

A cardiomiopatia restritiva é uma doença definida por restrição do enchimento diastólico devido a um aumento da rigidez ventricular (MacDonald, 2014). A CMR pode ser dividida em dois grupos diferentes: a endomiocárdica e a miocárdica. A CMR miocárdica é uma forma caracterizada por um enchimento diastólico restritivo, espessamento normal ou ligeiramente aumentado da parede livre do ventrículo esquerdo, assim como do septo interventricular, função sistólica preservada ou ligeiramente diminuída, dilatação atrial grave, comumente bilateral e fibrose intersticial. A forma endomiocárdica é caracterizada por uma fibrose extensa ao nível do endomiocardio e do endocardio. As lesões fibróticas afetam primeiramente o ventrículo esquerdo, podendo ter um aspecto similar a cicatrizes que vão desde os músculos papilares ou desde a parede livre do ventrículo até ao septo, contribuindo para um aumento da turbulência sanguínea e algum grau de obstrução pela fibrose estenótica (MacDonald, 2014; Ferasin, 2009). A causa deste subtipo de cardiomiopatia, hipoteticamente, poderá ser induzida a vírus, imuno-mediada ou devido a lesão endomiocárdica seguida de fibrose reparativa (MacDonald, 2014). O diagnóstico clínico de CMR é feito pela identificação de disfunção diastólica significativa, sem evidência de hipertrofia (Kittleson & Kienle, 1998). A causa mais comum de morte é a insuficiência cardíaca, seguida de morte súbita. De notar que o tromboembolismo é uma consequência grave e frequente deste tipo de cardiomiopatia (MacDonald, 2014).

### **Cardiomiopatia Dilatada**

A cardiomiopatia dilatada é caracterizada por dilatação das cavidades cardíacas e por hipocontratilidade do miocárdio (Ferasin, 2009a). A propósito da redução da contratilidade, o débito cardíaco irá diminuir subsequentemente, desencadeando uma ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) com aumento do volume de fluidos no organismo. Como há diminuição na contratilidade, o volume sanguíneo não é totalmente ejetado, acumulando-se nas cavidades cardíacas, predispondo ao aumento da pressão ventricular e atrial. Edema pulmonar, efusão pleural e ascite, entre outros, tornam-se consequências inevitáveis (MacDonald, 2014). Após investigação concluiu-se que a CMD em gatos está associada a uma deficiência em taurina, sendo que uma correção nutricional da alimentação felina conduziu à diminuição drástica da prevalência de CMD. Todavia, a prevalência não sendo 0 %, suspeita-se que há outras etiologias da doença, como por exemplo predisposição genética, um estadio final de doença valvular não diagnosticada ou doença isquémica do miocárdio (Ferasin, 2009a).

### **Cardiomiopatia Não Classificada**

A cardiomiopatia não classificada é uma categoria que engloba felinos cuja doença do miocárdio não se enquadra em nenhuma outra categoria. A CMNC é geralmente caracterizada por algum grau de disfunção ventricular esquerda, devido a ligeira hipertrofia concêntrica ou excêntrica, insuficiência valvular, dilatação atrial grave e subsequente insuficiência cardíaca. Alguns gatos também apresentam dilatação do átrio e ventrículo direitos. O critério patológico mais comum e proeminente é a dilatação biatrial grave. Na ausência de doença valvular ou de insuficiência do miocárdio, a disfunção diastólica poderá ser uma explicação destas alterações clínicas, contudo a origem da dita disfunção diastólica é também desconhecida (Kittleson & Kienle, 1998). É importante salientar que a CMNC pode constituir formas de outras cardiomiopatias ainda em estádios precoces (Ferasin, 2009a).

### **Cardiomiopatia Arritmogénica do Ventrículo Direito**

A cardiomiopatia arritmogénica do ventrículo direito é uma forma rara de cardiomiopatia, sendo mais comum em cães Boxer, cuja origem não é conhecida (MacDonald, 2014). A CMAVD consiste em dilatação atrial e ventricular direita graves, associada a arritmias ventriculares e supraventriculares, enquanto o lado esquerdo permanece pouco afetado. Aneurismas ventriculares podem também acontecer, assim como regurgitação da tricúspide. Histologicamente é muito característico a presença de tecido adiposo e fibroadiposo como substituto das células musculares cardíacas. Outras arritmias frequentes importantes de fazer menção são: a fibrilhação atrial, complexos prematuros ventriculares, bloqueios atrioventriculares, *standstill* atrial e bloqueio de ramo direito. Os felinos com este tipo de cardiomiopatia podem apresentar frequentemente sinais de efusão pleural, por vezes ascite e insuficiência cardíaca congestiva, que pode ser acompanhada por quilotórax (Orvalho, 2016; Ferasin, 2009; Bonagura, 2017).

### **Cardiomiopatia Não Compactada**

Relativamente à cardiomiopatia não compactada a WHO ainda a considera como uma cardiomiopatia não classificada, no entanto, em 2006, a *American Heart Association* reconheceu-a como um grupo distinto das restantes cardiomiopatias. Tem sido descrita em humanos e muito raramente em gatos. A cardiomiopatia não compactada surge porque os recessos formados no miocárdio durante a fase embrionária que, presumivelmente, permitiam a oxigenação do músculo, não desaparecem com o desenvolvimento do coração. Ou seja, o coração não compacta, ficando com numerosos recessos proeminentes. Este tipo de cardiomiopatia pode ser identificada isoladamente, contudo pode estar associada a outros tipos. Muitos pacientes podem ser assintomáticos, mas há uma clara disfunção sistólica e diastólica, assim como predispõe a taquiarritmias e tromboembolismo (Kittleson,

2014; Orvalho, 2016).

## 2.1.1. Cardiomiopatia Hipertrófica Felina

### 2.1.1.1. Epidemiologia

A cardiomiopatia hipertrófica é a doença cardíaca mais comum em gatos, afetando aproximadamente 15 % de gatos jovens aparentemente saudáveis e aumentando drasticamente a sua prevalência para cerca de 30 % em gatos com mais de 9 anos de idade (Payne *et al.*, 2015). Não obstante de ser reportada uma predileção por felinos machos, sabe-se que o modo de transmissão à descendência da CMH é autossômica dominante, portanto a incidência da doença será igual para machos e fêmeas. Porém, nos gatos machos Maine Coon é reportada uma forma mais grave e precoce da doença, comparativamente às fêmeas. De facto, esta situação pode conduzir à ilusão de que há maior prevalência em machos. Relativamente à raça, pode afirmar-se, indubitavelmente, que os Maine Coon e os Ragdoll são das mais predispostas, sendo que a causa genética para tal já foi quase totalmente determinada. São ainda de salientar outras raças predispostas a esta doença como o Bosque da Noruega, o Bengal, o Birmanês, o Persa, o American e o British Shorthair, o Siberiano, o Turkish Vans, entre outros. Para além destas, muitos felinos cruzados, ou seja, sem raça determinada, também são alvo da CMH (Kittleson, 2011; Fuentes & Wilkie, 2017).

Para além da genética que determina o desenvolvimento de CMH, há também alterações orgânicas que podem predispor para uma hipertrofia secundária à anormalidade primária como, por exemplo, o hipertiroidismo, a hipertensão arterial ou estenose aórtica, entre outras (Kittleson, 2011).

Geralmente, a presença de um sopro cardíaco, ser macho, obeso e com idade avançada são fatores que coincidem com o aparecimento de CMH (Payne *et al.*, 2015; Fuentes & Wilkie, 2017). Um estudo sugere que cerca de 20 a 60 % dos gatos possuem um sopro cardíaco, sendo que a percentagem aumenta com a idade (Fuentes & Wilkie, 2017). Nakamura, Rishniw, King, & Sammarco (2011) afirmam que gatos aparentemente saudáveis que se apresentam à clínica com um sopro, cerca de 50 % terão doença cardíaca e 50 % não terão. Por outro lado, a IDEXX Laboratories (2014) constata que um em cada quatro gatos aparentemente saudáveis possui sopro, mas apenas 25 % destes terá evidência ecocardiográfica de cardiomiopatia. Ainda, Oyama *et al.* (2013) e Payne *et al.* (2015) defendem que a prevalência de sopro está entre os 15,5 % e os 34 %. Assim, nem todos os gatos com CMH têm sopro e, em contraste, existem gatos com sopro que são saudáveis. O principal sopro cardíaco associado à CMH é devido à obstrução dinâmica do trato de saída

do ventrículo esquerdo. É importante ressaltar que não os sopros, mas os ritmos galope são geralmente o sinal mais específico de CMH grave (Fuentes & Wilkie, 2017; Kittleson, 2011). De notar que muitos gatos com CMH não apresentam qualquer sinal clínico na altura do diagnóstico (Ettinger, Feldman, & Côté, 2010).

#### 2.1.1.2. Etiologia

Como já foi mencionado a cardiomiopatia é, por definição, uma afeção primária do miocárdio que tem por base alterações genéticas, adquiridas ou ambas e ainda poderá ser idiopática (Beijerink, 2016; Bonagura, 2017). Por outro lado, há afeções sistémicas no organismo (e.g.: hipertiroidismo, hipertensão sistémica, acromegália, entre outras) que predis põem para uma hipertrofia do coração com aparência similar à cardiomiopatia hipertrófica primária. Neste caso, a hipertrofia observada é mais modesta que no primeiro, observando-se um espessamento da parede e do septo interventricular menor (Kittleson, 2011; Ferasin, 2009). Assim, apesar de não ser a nomenclatura mais correta, na prática clínica caracterizam-se estas hipertrofias secundárias a uma alteração sistémica como cardiomiopatias hipertróficas secundárias, que devem ser excluídas antes de um diagnóstico de CMH idiopática ou hereditária (Sampedrano *et al.*, 2006).

Presumivelmente, as mutações dos sarcómeros alteram os processos moleculares que codificam a contração dos sarcómeros, conduzindo a um aumento do tamanho das células musculares e, conseqüentemente, ao aumento da espessura das paredes ventriculares (Longeri *et al.*, 2013). Corroborando o que foi dito, os Maine Coon e os Ragdoll são gatos cuja causa genética da alta prevalência de CMH já foi determinada em parte. A doença é transmitida de forma autossómica dominante. No entanto não apresenta uma penetrância de 100 % nos Maine Coon, uma vez que há gatos que possuem a mutação e não têm evidências ecocardiográficas de CMH (Kittleson, 2011). Um estudo sugere que a prevalência da mutação nos gatos Maine Coon varia entre 22-42 % (Fuentes, 2016). Assim, podemos inferir que pode haver mais causas responsáveis pelo desenvolvimento de CMH, mas ainda não bem conhecidas. A mutação responsável pela CMH no Maine Coon é a troca do aminoácido alanina pela prolina na proteína A31P que está codificada no exão 3 do gene que codifica a proteína *cardiac myosin binding protein C* (MYBPC3), resultando na alteração da estrutura e função da mesma (Kittleson, 2011). Um estudo confirma que os Maine Coon heterozigóticos para a mutação MYBPC3-A31P raramente apresentam alterações ecocardiográficas quando são animais jovens ou de meia-idade. Contudo, Maine Coon homozigóticos normalmente desenvolvem CMH mais precocemente, podendo mesmo ser a partir dos 6 meses de idade, atingindo um estadio grave ao ano de idade (Longeri *et al.*, 2013; Kittleson, 2011). De salientar que cerca de 48 % dos Maine Coon homozigóticos sofrem uma morte de etiologia cardíaca (Fuentes, 2016). Relativamente aos Ragdoll, uma

mutação foi identificada no mesmo gene, porém numa zona que codifica uma proteína diferente (R820W) (Longeri *et al.*, 2013). Fuentes (2016) sugere uma prevalência da mutação em Ragdoll de cerca de 17-27 %. A morte dos gatos antes destes atingirem o ano de idade deve-se presumivelmente à homozigotia presente (Kittleson, 2011). Para além destas duas raças, são de salientar outras como o Bosque da Noruega, o Persa, o British Shorthair e mesmo gatos sem raça definida, entre outros, que provavelmente estão sujeitos a mutações similares que alteram as funções e a estrutura de determinadas proteínas, resultando em CMH (Kittleson, 2011; Longeri *et al.*, 2013). Desta forma, a avaliação ecocardiográfica é, sem dúvida, o método de eleição para diagnosticar CMH, mas, ainda assim, não deve ser o único método de diagnóstico nas raças de alto risco, uma vez que a doença pode só vir a manifestar-se mais tardiamente. Deve, portanto, recorrer-se a testes que identifiquem a presença de tais mutações (Longeri *et al.*, 2013).

As alterações sistémicas que afetam frequentemente os nossos animais de companhia podem ter repercussões no seu sistema cardiovascular. Elencando algumas importantes temos o hipertiroidismo, hipertensão arterial sistémica, doença vascular, doença renal crónica, linfoma, miocardite, distrofia muscular, cardiomiopatia induzida por esteróides, estenose aórtica, *diabetes mellitus*, disfunção adrenal, acromegália, desequilíbrios eletrolíticos, doença gastrointestinal e alterações de algumas características sanguíneas (Ettinger *et al.*, 2010; Kittleson & Kienle, 1998). Nesta revisão far-se-á uma breve menção àquelas que têm um papel mais importante relativamente ao desenvolvimento de CMH secundária.

O hipertiroidismo provoca notáveis alterações hemodinâmicas no sistema cardiovascular, uma vez que o miocárdio é extremamente sensível aos níveis da hormona tiroideia. Kittleson & Kienle (1998) sugerem que a hormona da tiroide tem efeitos diretos no miocárdio tais como: um efeito inotrópico positivo, estimulação da hipertrofia cardíaca e aumento da resposta à estimulação adrenérgica (*e.g.*: aumento da frequência cardíaca). O hipertiroidismo também aumenta a susceptibilidade a arritmias durante procedimentos anestésicos, desencadeia hipertensão sistémica e pode contribuir para a insuficiência cardíaca congestiva. A base destes efeitos é devido à capacidade da hormona provocar alterações nas células musculares cardíacas, nas células musculares lisas vasculares e no endotélio (Connolly, 2006; Kittleson & Kienle, 1998). Oyama *et al.* (2013) e Menaut *et al.* (2012) constataram que o restabelecimento do eutiroidismo conduz à diminuição da concentração do fragmento N-terminal do péptido natriurético tipo-B (NT-proBNP) no sangue, que é um biomarcador de função cardíaca. Menaut *et al.* (2012) e Liang, Webb, Marimuthu, Zhang, & Gardner (2003) introduzem uma outra teoria digna de menção, referindo que as hormonas da tiroide influenciam as concentrações de NT-proBNP pela modulação direta da transcrição dos peptídeos.

A hipertensão arterial sistêmica é um fator que pode ser responsável pelo aumento do espessamento da parede ventricular em gatos. Apesar do aumento do espessamento não ser consideravelmente grande, é importante descartar sempre esta hipótese antes de um diagnóstico definitivo. Isto acontece, uma vez que o ventrículo está sujeito a pressões aumentadas e, como já explicado, este responde com um incremento da massa muscular - hipertrofia. A falha cardíaca, apesar de não muito frequente, pode ocorrer, assim como gatos sem diagnóstico de hipertensão, após receberem fluidoterapia, podem desenvolver insuficiência cardíaca congestiva (Brown *et al.*, 2007). Nesta espécie, uma das principais consequências da hipertensão traduz-se em sequelas oculares (e.g.: descolamento da retina, hemorragia da retina, atrofia da retina, entre outros) (Kittleson & Kienle, 1998) e esta síndrome é comumente conhecida como retinopatia hipertensiva ou coroidopatia (Brown *et al.*, 2007).

A doença renal crônica é uma outra afeição que, se não controlada, poderá ter algumas repercussões no sistema cardiovascular, pelo desenvolvimento de hipertensão sistêmica. A hipertensão desenvolve-se por ativação do SRAA, retenção de fluidos, aumento da atividade do sistema nervoso simpático e alteração da excreção do sódio (Rothrock, 2016; Kittleson & Kienle, 1998). Como já explicado, por ocasião de hipertensão, irá haver um incremento da massa muscular ventricular. Contudo, a insuficiência cardíaca congestiva associada a doença renal crônica isolada ainda não foi documentada em animais (Kittleson & Kienle, 1998). É ainda de salientar que o NT-proBNP pode estar aumentado devido à diminuição da *clearance* renal, sem obrigatoriamente existir uma doença cardíaca (Oyama *et al.*, 2013).

Schober & Todd (2010) confirmam que alterações funcionais e intrínsecas da válvula mitral podem favorecer o aparecimento de obstrução dinâmica do trato de saída do ventrículo esquerdo e, em consequência, predispor para o agravamento da hipertrofia. Estas alterações podem ser: cordas tendíneas e folhetos da válvula mitral alongados e distorcidos, cordas tendíneas e folhetos restritivos, espessamento e prolapso da válvula mitral, deslocamento proximal do ponto de coaptação da válvula mitral, folhetos anteriormente deslocados, entre outros. Assim, apesar de não provado, parece que estas alterações morfológicas da válvula podem acompanhar as mutações sarcoméricas como causa do desenvolvimento de CMH. Clinicamente, é crucial distinguir estas alterações da clássica displasia da válvula mitral, visto que são situações com abordagens díspares (Schober & Todd, 2010).

É ainda de notar que situações como a desidratação ou, por vezes, a taquicardia que podem desencadear uma hipertrofia temporária – pseudohipertrofia (Ware, 2011).

### 2.1.1.3. Fisiopatologia

As mutações nos genes respeitantes às células musculares cardíacas vão despoletar uma cascata de alterações no coração que futuramente serão prejudiciais. A par destas mutações, as alterações orgânicas que fazem brotar uma CMH secundária também são responsáveis por alterações do mesmo cariz. Estas irão condicionar o músculo de contrair e relaxar corretamente, resultando numa hipertrofia. Além disso, as fibras cardíacas frequentemente adotam uma posição característica não alinhada. A hipertrofia do músculo aumenta a rigidez ventricular, comprometendo o fluxo sanguíneo no próprio coração. Nesse seguimento, isquémia do miocárdio, morte celular e substituição de células musculares por fibroblastos são consequências esperadas. A principal característica da CMH é uma disfunção diastólica, visto que o espessamento da parede ventricular pode duplicar (aumentar de 3 - 5mm para > 6 mm nos casos de CMH primária. Na CMH secundária o espessamento ventricular pode não ser tão acentuado). Inicialmente a disfunção diastólica manifesta-se por aumento das pressões dentro dos ventrículos, uma vez que o lúmen é mais pequeno e a quantidade de sangue que entra para os ventrículos mantém-se à custa da contração atrial. Ou seja, a quantidade de sangue que entra passivamente dentro dos ventrículos diminui e a quantidade de sangue que entra pela contração atrial aumenta, mas a quantidade total de sangue é igual. Devido ao elevado esforço a que o átrio se submete, a dilatação atrial é uma consequência frequente. Assim, devido à sua dilatação, o átrio deixa de ser competente para enviar todo o sangue para o ventrículo, criando-se progressivamente uma acumulação de sangue a montante e, conseqüentemente, eventual aparecimento de edema ou efusão pleural. Nestes estadios mais avançados, o sangue que entra no ventrículo vai entrar passivamente quando a válvula mitral se abre, mas irá haver sempre sangue que não consegue entrar no ventrículo, acumulando-se a montante. Como há menos sangue a ser enviado para o organismo, irá haver ativação do sistema SRAA como método compensatório, que também estimula a produção de colagénio e fibrose intersticial. A fibrose aumenta ainda mais a rigidez muscular (Boon, 2011). Por ocasião da dilatação atrial, irá haver maior predisposição para a formação de trombos, devido à estase sanguínea, resultando nos frequentes tromboembolismos aórticos felinos. Acompanhando a hipertrofia das cavidades cardíacas, os músculos papilares podem hipertrofiar igualmente, condicionando o movimento dos folhetos da válvula mitral. Assim, surge o movimento sistólico anterior da válvula mitral (SAM), ou seja, os músculos papilares puxam o folheto anterior da válvula mitral em direção ao septo interventricular, já hipertrofiado, aquando da sístole, provocando uma estenose subaórtica dinâmica no trato de saída do ventrículo esquerdo. A velocidade do fluxo sanguíneo aumenta nesta zona, assim como a turbulência sanguínea, dando origem a um sopro muito característico na CMH. Contudo, este sopro não está sempre presente, pois o movimento da válvula é dinâmico. Frequentemente em gatos

em repouso o sopro silencia e, após um evento de *stress*, pode reaparecer. O SAM grave contribui, sem dúvida, para o agravar da hipertrofia, visto que aumenta a pressão sistólica. A propósito da existência de SAM, classificamos esta cardiomiopatia como cardiomiopatia hipertrófica obstrutiva (Kittleson & Lake-Bakaar, 2017; Kittleson, 2011; Kittleson & Kienle, 1998). É importante frisar que pode desenvolver-se regurgitação mitral secundária a SAM, uma vez que há uma coaptação incompleta dos folhetos valvulares na sístole (Abbott, 2010). Em cerca de 30 % dos felinos, a hipertrofia ventricular não se distribui de um modo simétrico, existindo variados fenótipos de CMH. Muitas vezes há hipertrofia assimétrica septal ou zonas focais nas paredes ventriculares onde a hipertrofia se denota mais (Atkins, 2012; Sisson *et al.*, 1999). Quando a hipertrofia é mais marcada no septo interventricular, pode desenvolver-se obstrução dinâmica no trato de saída do ventrículo esquerdo, mesmo na ausência de SAM, causando o sopro dinâmico característico da CMH (Boon, 2011). A julgar oportuno, na presença de cardiomiopatia a dilatação atrial, assim como a isquemia do miocárdio, podem contribuir para a ocorrência de alterações nos potenciais de membrana, resultando em arritmias (*e.g.*: fibrilhação atrial, *flutter* atrial ou taquiarritmias ventriculares e supraventriculares, bloqueios atrioventriculares entre outras) (Kittleson & Lake-Bakaar, 2017; Boyden *et al.*, 1984; Smouter, Lehmkuhl, Adin, & Nguyenba, 2012; Sisson *et al.*, 1999; Ettinger *et al.*, 2010).

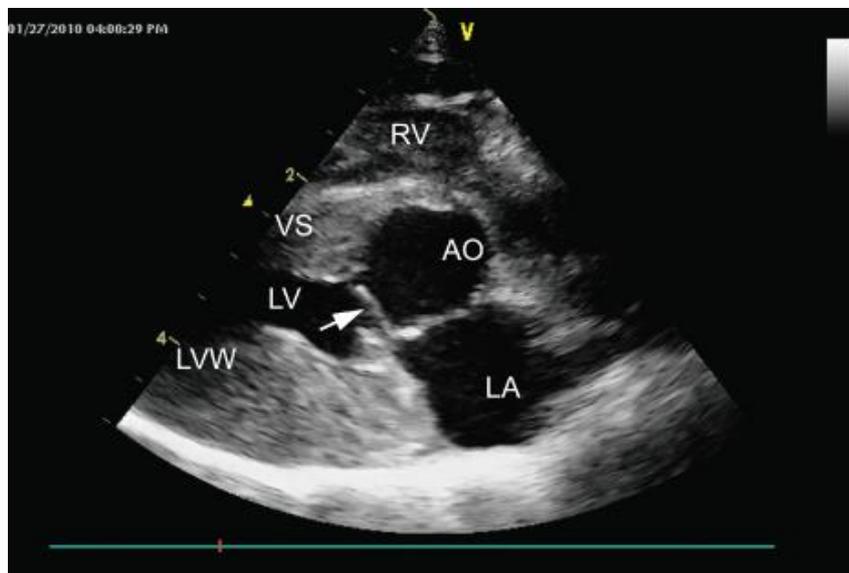


Figura 1: Plano paraesternal longo-eixo em modo bi-dimensional de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando SAM (seta) (adaptado de Boon, 2011)

#### 2.1.1.4. Diagnóstico

##### 2.1.1.4.1. Quadro clínico

O quadro clínico da CMH é caracterizado por um espectro diverso de sinais e apresentações clínicas, portanto o veterinário deverá estar sempre alerta para detetar qualquer sinal clínico.

Em gatos com CMH podem existir indivíduos sem qualquer evidência de doença cardíaca, alguns apresentarem-se somente com um sopro cardíaco, outros com ritmo galope quando a doença é mais grave, outros com sinais subtis de insuficiência cardíaca, outros com doença moderada a grave e que se apresentam com sinais evidentes de insuficiência cardíaca (e.g.: taquipneia e dispneia) e, não esquecendo, os que vêm à consulta por sinais de tromboembolismo aórtico (Kittleson, 2011). Há também aqueles que morrem subitamente (Kittleson & Kienle, 1998).

Cerca de 33-77 % dos gatos sem qualquer evidência de doença cardíaca, apresentam-se na clínica e é-lhes diagnosticada CMH (Ettinger *et al.*, 2010).

As principais causas de sopro cardíaco em gatos incluem doenças estruturais do coração, débito cardíaco aumentado e causas inocentes. O principal sopro associado à CMH é devido à obstrução dinâmica do trato de saída do ventrículo esquerdo, como explicado anteriormente. É importante frisar que a intensidade do sopro pode variar com o sistema nervoso simpático e, portanto, um aumento de intensidade pode não justificar um agravamento da doença (Fuentes & Wilkie, 2017). O ritmo galope poderá estar presente quando a doença já está num estadio mais avançado, tornando-se, assim, um sinal mais específico de CMH. De notar que os sons do ritmo galope nem sempre correspondem aos três sons característicos, uma vez que podem ser confundidos com simples *clicks* sistólicos que ocorrem com alguma frequência em gatos (Kittleson, 2011; Fuentes & Wilkie, 2017). Payne *et al.* (2013) defendem que a presença de taquicardia (frequência cardíaca > 200) e sopro não estão diretamente associados ao pior cenário possível da doença, mas a presença de ritmo galope e / ou arritmias indicam um prognóstico mais grave. Por outro lado, gatos com um espessamento considerável do músculo cardíaco poderão começar a apresentar sinais de insuficiência cardíaca como taquipneia ou dispneia devido a edema pulmonar ou efusão pleural. Contudo, estes, muitas vezes, passam despercebidos aos proprietários (Kittleson, 2011). A tosse é menos frequente. Anorexia e letargia são comuns em gatos, sendo que precedem frequentemente o início da insuficiência cardíaca congestiva em cerca de 24 a 72h. Existem, de facto, alguns eventos antecedentes que poderão precipitar o início desta descompensação como traumatismo, fluidoterapia, períodos

anestésicos e submissão a cirurgia, administração de corticosteroides, entre outros. Outros sinais dignos de menção são parésia aguda dos membros posteriores muito dolorosa que se relaciona com o tromboembolismo aórtico característico da CMH e, menos comumente, parésia dos quatro membros. Outros sinais menos frequentes são a síncope e a fraqueza e há suspeita dos felinos poderem sofrer angina de peito como os humanos (Ettinger *et al.*, 2010). Por último, muitos pacientes podem morrer subitamente, presumivelmente, por arritmias fatais, grandes trombos que se alojam no ventrículo ou aorta proximal ou por agravamento agudo do SAM (Kittleson, 2011).

#### 2.1.1.4.2. Exames complementares de diagnóstico

##### 2.1.1.4.2.1. Eletrocardiografia

As alterações eletrocardiográficas na CMH são altamente variáveis e, geralmente, não específicas (Sisson *et al.*, 1999). No entanto, a morte súbita em gatos com esta afeição, é muitas vezes atribuída a uma arritmia fatal (Smouther *et al.*, 2012; Kittleson, 2011). Smouther *et al.* (2012) observaram que as arritmias mais frequentes são complexos ventriculares prematuros, ritmos idioventriculares e arritmias supraventriculares, salientando que a frequência cardíaca normalmente mantinha-se semelhante a felinos saudáveis. Já Kittleson & Lake-Bakaar (2017) referiram a existência de complexos atriais prematuros, taquicardia atrial e ventricular e fibrilhação atrial. Sisson *et al.*, (1999) e Ettinger *et al.*, (2010) fazem menção ao bloqueio de ramo anterior esquerdo, assim como um aumento da duração da onda P pela dilatação atrial, um aumento da duração do QRS e aumento da amplitude da onda R pela dilatação / hipertrofia do ventrículo esquerdo. Os bloqueios atrioventriculares e a dissociação atrioventricular estão descritos na literatura, mas são pouco frequentes (Ettinger *et al.*, 2010).

##### 2.1.1.4.2.2. Radiologia

A cardiomegalia é a alteração radiográfica mais comumente identificada nos casos de CMH felina. Como nos cães, o *Vertebral Heart Score* - VHS pode também ser uma ferramenta útil nas radiografias latero-laterais, pois é um método quantitativo para medir o tamanho do coração característico da radiologia. Neste método o comprimento do eixo longo do coração é medido e somado ao comprimento do eixo curto. Posteriormente, esta medida é comparada com o comprimento dos corpos vertebrais, começando em T4. A média do VHS em cães é cerca de 9.7 vértebras com desvio padrão de 0.5 (Thrall, 2013) e  $7.5 \pm 0.3$  nos gatos (Ettinger *et al.*, 2010). A partir deste exame também é possível avaliar os padrões vasculares e do parênquima pulmonar, uma vez que muitas vezes estão alterados no caso de doença cardíaca (Sisson *et al.*, 1999). De facto, a CMH pode ter uma

característica peculiar conhecida como o “coração de São Valentim” nas vistas ventrodorsal (VD) e dorsoventral (DV), uma vez que por ocasião de dilatação atrial extrema, o coração adota tal aparência. No entanto, para além de não ser muito frequente, pois sugere uma dilatação muito grave, ou seja, um estadio extremamente avançado, não é específica de CMH. Já foi estudada a sua presença noutros tipos de cardiomiopatia (e.g.: CMR ou CMNC), assim como noutras afeções cardíacas (Thrall, 2013; Ettinger *et al.*, 2010). Ainda assim, as vistas VD e DV são as mais indicadas para despistar dilatação atrial. Em gatos sintomáticos, é possível identificar edema pulmonar, congestão dos vasos pulmonares (menos comum em gatos do que em cães), com ou sem envolvimento da artéria pulmonar e, num estadio avançado, efusão pleural. O edema pulmonar é uma afeção bastante comum no caso de CMH devido à disfunção diastólica característica. Quando a doença já se encontra num estadio muito avançado, podem ser detetados sinais de insuficiência cardíaca congestiva generalizada com desenvolvimento de hepato e esplenomegália e ascite, por exemplo (Sisson *et al.*, 1999). De notar que a presença de edema pulmonar e efusão pleural pode impossibilitar a visualização das margens cardíacas (Ettinger *et al.*, 2010).

#### 2.1.1.4.2.3. Ecocardiografia

O diagnóstico definitivo de CMH felina é baseado na avaliação das alterações funcionais e estruturais do coração através da ecocardiografia (Silva, Muzzi, Oberlender, Nogueira, & Muzzi, 2013). Esta avalia a gravidade da hipertrofia ventricular e as dimensões das cavidades cardíacas, deteta a presença de SAM, avalia a função do miocárdio, a presença de trombos intracavitários e condições que predispõem à formação de trombos (e.g.: *atrial smoke*). A principal característica que conduzirá a um diagnóstico de CMH é o espessamento do septo interventricular e / ou da parede livre do ventrículo esquerdo com mais de 6 mm em telediástole. Contudo, é de notar que a CMH é uma doença heterogénea, podendo adoptar um leque de fenótipos distintos, desde hipertrofia média localizada num determinado segmento, até hipertrofia grave por todo o músculo cardíaco, ou mesmo hipertrofia condicionada somente aos músculos papilares (Sisson *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2013; Adin & Diley-Poston, 2007; Ferasin, 2009b). Embora as principais alterações na CMH sejam devido à disfunção diastólica presente, alguns índices sistólicos como a fração de ejeção (EF) e a fração de encurtamento (SF) podem encontrar-se alterados. No início da doença podemos observar um aumento dos índices (Ferasin, 2009b; Silva *et al.*, 2013; Ware, 2011). Como já referido, a dilatação atrial está associada ao aumento da pressão ventricular no fim da diástole, devido à disfunção diastólica presente. Assim, o diâmetro atrial no fim da sístole em gatos saudáveis deverá ser menor do que 10.0 mm e o *ratio* entre o diâmetro atrial esquerdo e o diâmetro aórtico não deverá exceder 1.5 (Silva *et al.*, 2013; Ferasin, 2009b; Abbott & MacLean, 2006). Já o diâmetro ventricular no fim da sístole deverá

ser menor do que 14 mm, caso contrário estamos perante eventual dilatação ventricular (Ferasin, 2009b). Na forma obstrutiva, podemos identificar facilmente o fluxo turbulento através da técnica *Doppler* (Silva *et al.*, 2013; Ferasin, 2009b). A regurgitação mitral, quando presente, pode ser também facilmente identificada através da técnica *Doppler*.

Relativamente ao exame em si, existem diversos métodos que são utilizados em medicina felina para uma avaliação completa, entre os quais: o modo-M, o modo Bi-dimensional e o *Doppler* clássico (pulsado, contínuo e codificado por cor). Ainda de salientar algumas técnicas mais recentes como *Strain* e *Strain rate* (índices de deformação miocárdica), *Doppler* Tecidual (TDI) e o *Speckle-Tracking* (rastreamento de pontos pela ecocardiografia Bi-dimensional) que providenciam novos parâmetros para a avaliação da função do miocárdio (Almeida *et al.*, 2013; Ettinger *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2013). Nesta revisão far-se-á menção somente às técnicas mais utilizadas na prática clínica.

<p><b>Modo bi-dimensional e modo-M</b></p>	<p>Hipertrofia do ventrículo esquerdo simétrica / assimétrica, difusa / segmentada, com espessamento da parede livre do ventrículo esquerdo e / ou septo interventricular &gt; 6 mm em telediástole</p> <p>Hipertrofia dos músculos papilares</p> <p>Possível obliteração da cavidade ventricular esquerda no fim da sístole</p> <p>Função sistólica normal ou aumentada</p> <p>Disfunção diastólica</p> <p>Presença de dilatação atrial</p> <p>Presença de SAM</p>
<p><b>Doppler Pulsado</b></p>	<p>Fluxo Mitral - Padrão de relaxamento: <i>ratio</i> E : A &lt; 1; tempo de desaceleração da onda E aumentado; tempo de relaxamento isovolumétrico &gt; 60 ms</p> <p>Estudar o gradiente de pressão na região da estenose subaórtica</p>
<p><b>Doppler codificado por cor</b></p>	<p>Regurgitação mitral</p> <p>SAM - 2 jatos sistólicos turbulentos (regurgitação mitral e estenose subaórtica)</p>
<p><b>Doppler Tecidual (TDI)</b></p>	<p>Diminuição das ondas E em diástole com <math>E' &lt; 6 \text{ cm / s}</math></p> <p>Se pressões de enchimento diastólico não elevadas <i>ratio</i> E : E' &lt; 12)</p> <p>Disfunção diastólica</p>

Tabela 1: Critérios de diagnóstico ecocardiográfico de cardiomiopatia hipertrófica felina (adaptado de Ettinger *et al.*, 2010; Sisson *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2013; Côté, E., MacDonald, K.A., Meurs, K.M., Sleeper, 2013)

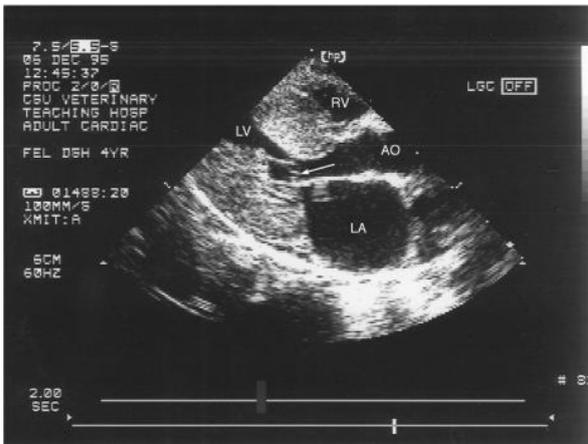


Figura 2: Plano paraesternal longo-eixo em modo bi-dimensional de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando uma hipertrofia simétrica grave (adaptado de Boon, 2011)

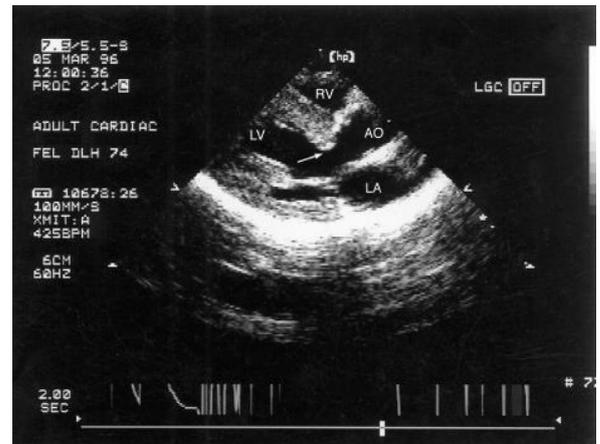


Figura 3: Plano paraesternal longo eixo em modo bi-dimensional de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando uma hipertrofia do septo interventricular (seta) (adaptado de Boon, 2011)

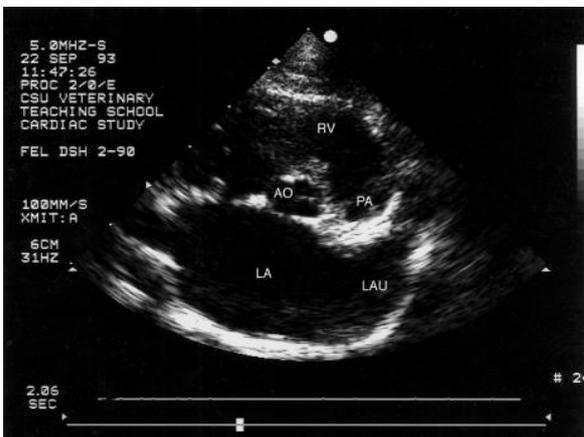


Figura 4: Plano paraesternal transversal da base do coração em modo bi-dimensional de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando uma dilatação atrial grave (adaptado de Boon, 2011)

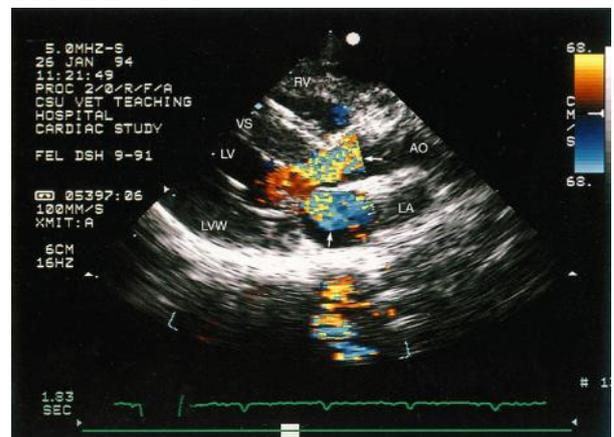


Figura 5: Plano paraesternal eixo-longo em modo bi-dimensional com *Doppler* codificado por cor de um gato com cardiomiopatia hipertrófica, representando regurgitação mitral (seta pequena) secundária à obstrução dinâmica no trato de saída do ventrículo esquerdo causada por SAM (adaptado de Boon, 2011)

#### 2.1.1.4.2.4. Marcadores bioquímicos cardíacos como método de diagnóstico

Os biomarcadores cardíacos são substâncias biológicas, maioritariamente péptidos, cuja concentração se encontra aumentada no plasma, por ocasião de uma lesão cardíaca ou de disfunção do miocárdio. Baseando-nos na hipótese neuroendócrina que a progressão da insuficiência cardíaca é uma consequência da má adaptação das respostas neuroendócrinas, como a do SRAA, muita investigação tem sido direccionada no sentido de bloquear estas respostas, em certa medida. Assim, a familiaridade com estes mediadores endócrinos (e.g.: fragmento N-terminal do péptido natriurético tipo-B – NT-proBNP) ajudar-nos-á a utilizar as suas concentrações plasmáticas como indicadores da progressão da doença cardíaca (Ettinger *et al.*, 2010).

Em medicina humana, a avaliação cardiovascular é realizada consoante quatro tipos de situações clínicas: necrose / lesão do miocárdio, função do miocárdio, homeostase das lipoproteínas séricas e a inflamação do sistema cardiovascular. Para a avaliação destes parâmetros pode recorrer-se à medição plasmática de troponinas cardíacas (cTnI e cTnT), do NT-proBNP, das lipoproteínas / perfis de colesterol e da proteína plasmática C-reativa (CRP), respetivamente. Uma vez que, em medicina veterinária, as lipoproteínas e a CRP não são específicas da doença do miocárdio, estas não serão exploradas nesta revisão detalhadamente (Solter, 2007).

Assim, ao longo dos anos o estudo dos biomarcadores de lesão e função do miocárdio tem vindo a emergir cada vez mais, melhorando a avaliação do diagnóstico, do prognóstico e da terapêutica em pacientes com alterações cardíacas, tais como: cardiomiopatias, miocardite, toxicidade do miocárdio por fármacos (e.g.: doxorrubicina utilizada na quimioterapia), isquémia do miocárdio, diferenciar causas cardíacas *versus* não cardíacas de dispneia ou detetar precocemente alguma doença cardíaca assintomática, entre outras (Terri, 2008).

A despeito de existirem diferentes marcadores bioquímicos de lesão e função do miocárdio, como a creatinina cinase (CK), as troponinas, a lactato desidrogenase (LDH), os peptídeos natriuréticos atriais ou tipo-A (ANP), os peptídeos natriuréticos cerebrais ou tipo-B (BNP), as endotelinas, o factor de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), entre outros, debruçar-nos-emos sobre as troponinas e os peptídeos natriuréticos, visto serem aqueles que possuem maior utilidade clínica (Terri, 2008).

## **Troponinas**

As troponinas são proteínas estruturais miofibrilhares essenciais tanto no músculo cardíaco, como no estriado e têm preservado a sua homologia entre os humanos e os outros mamíferos ao longo de muito tempo (Lombard, 2010; Oyama, 2007). O complexo das troponinas é um grupo de proteínas (I, T e C) que regulam a interação entre a actina e a miosina nas células musculares (Boswood, 2007) e, por consequência de uma remodelação do miocárdio e dano nos sarcômeros, a troponinas libertam-se dos miócitos (Häggström, 2006). A troponina cardíaca I (cTnI) foi reconhecida como o biomarcador mais sensível e específico da isquemia miocárdica em humanos (Terri, 2008; Boswood, 2007; Sleeper, Clifford, & Laster, 2001; Solter, 2007), demonstrando uma especificidade mais elevada do que a creatinina cinase e uma especificidade e sensibilidade mais elevada do que a troponina T (cTnT). Ademais, a cTnI tem um maior tempo de semi-vida do que a creatinina cinase, uma vez que a sua concentração sanguínea aumenta após 5 a 7 horas do início da lesão do miocárdio, podendo permanecer no sangue até 8 dias (Sleeper *et al.*, 2001). Häggström (2006) refere que as concentrações de cTnI parecem aumentadas em animais com doenças cardíacas crônicas como CMD, CMH, doença degenerativa da válvula mitral (DDVM) e estenose aórtica subvalvular (EAS), no entanto as suas concentrações estão normalmente abaixo do limiar dos valores que caracterizam um enfarte agudo do miocárdio e que são clinicamente detetáveis. Assim, as troponinas I são bastante úteis para o diagnóstico de lesão miocárdica aguda, como por exemplo lesão miocárdica secundária a contusão torácica, miocardite, cardiotoxicidade do miocárdio por doxorubicina e ainda em diferentes casos como sépsis, arritmias, intoxicações, babesiose, insuficiência cardíaca aguda ou dilatação gástrica, entre outros (Terri, 2008; Häggström, 2006; Lombard, 2010). Um estudo sugere que em gatos a concentração de troponinas no sangue é significativamente maior aquando de cardiomiopatia hipertrófica moderada a grave (Herndon *et al.*, 2002). Em suma, a cTnI é atualmente um biomarcador muito fidedigno no diagnóstico *antemortem* de lesão cardíaca aguda, uma vez que apenas é expressa no coração, enquanto a isoforma TnT também é expressa no músculo esquelético (Häggström, 2006; Apple, 1999). Altas concentrações de troponinas indicam que se deve aprofundar a investigação, mas baixas concentrações não excluem a presença de doença cardíaca (Häggström, 2006).

## **Peptídeos Natriuréticos**

Dos biomarcadores atualmente existentes, os péptidos natriuréticos representam, provavelmente, o grupo com mais potencial para detetar alterações no coração. São um grupo de hormonas caracterizadas por ter uma estrutura em anel com duas extensões: N-terminal e C-terminal, conhecidas como “cabeça” e “cauda”, respetivamente (Inoue *et al.*,

2005). Três péptidos natriuréticos são descritos em mamíferos: o tipo-A ou atrial (ANP) e o seu homólogo renal urodilatina (van Kimmenade & Januzzi Jr., 2009), o tipo-B ou cerebral (BNP) e o tipo-C (CNP). Um quarto tipo de peptídeo é descrito no veneno da cobra Green Mamba (DNP) e, por último, um quinto tipo foi isolado dos ventrículos da enguia e da truta (VNP), acreditando-se que este seja homólogo do BNP (Solter, 2007; Kawakoshi, Hyodo, Inoue, Kobayashi, & Takei, 2004). O ANP, BNP e VNP são hormonas circulantes expressadas principalmente no coração, contrariamente à CNP que é secretada por células endoteliais e tem funções parácrinas e endócrinas no cérebro e na vasculatura (Martinez-Rumayor, Richards, Burnett, & Januzzi, 2008; Solter, 2007; Inoue *et al.*, 2005). Assim, esta revisão vai incidir com maior ênfase no ANP e no BNP, uma vez que são as principais hormonas biomarcadoras de função cardíaca no gato.

Após a tradução do gene BNP, é produzido o peptídeo pré-proBNP e este, por sua vez, é clivado, resultando na prohormona proBNP. Subsequentemente, o proBNP é novamente clivado por proteínas proteolíticas, libertando uma porção biologicamente inativa, o NT-proBNP e uma porção ativa, o BNP (Martinez-Rumayor *et al.*, 2008). Todo este processo biológico é similar para as moléculas ANP e NT-proANP.

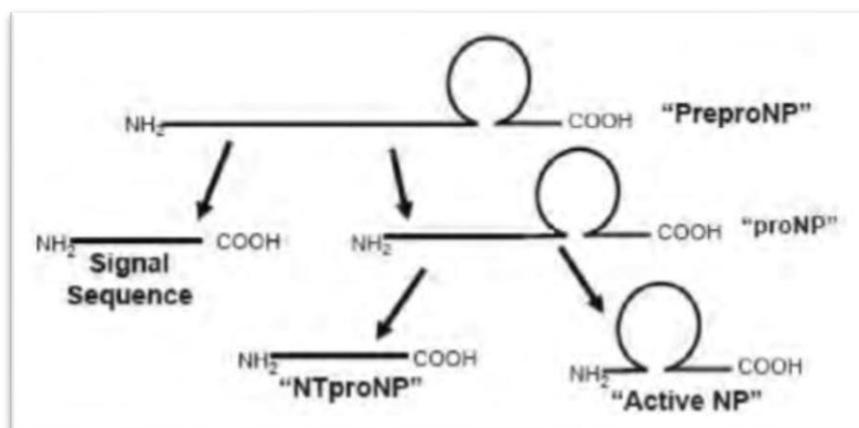


Figura 6: Representação da clivagem do pré-proNP em proNP e do proNP em NTproNP e NP (adaptado de Solter, 2007)

Em animais saudáveis, tanto o BNP como o ANP derivam maioritariamente dos átrios, onde estão armazenados em grânulos sob a forma dos seus precursores - proBNP e proANP. Aumentos plasmáticos repentinos de ANP e BNP são devidos à libertação dos seus precursores dos átrios, em resposta ao aumento da distensão dos sarcómeros, ao aumento da pressão nas cavidades cardíacas no fim da diástole, à isquémia ou à estimulação neurohormonal. Os aumentos de ANP e BNP com a doença cardíaca são sustentados pelo aumento da expressão do m-RNA em diferentes regiões do coração. Assim, em pacientes com doença do miocárdio, a produção de BNP aumenta drasticamente, suplantando a

produção de ANP, uma vez que o principal local de produção do BNP passa a ser nos ventrículos. Estudos prévios referem que a concentração de BNP está diretamente relacionada com medidas de gravidade da doença cardíaca, como a dilatação atrial e o espessamento das cavidades ventriculares. Ambas as hormonas são eliminadas do sangue através de recetores peptídicos natriuréticos-C (NPR-C), podendo também ser degradadas por endopeptidases. Tanto os NPR-C como as endopeptidases têm mais afinidade para o ANP do que para o BNP, explicando, portanto, o tempo de semi-vida mais longo do BNP. Os fragmentos inativos resultantes da clivagem dos proBNPs são removidos mais lentamente da circulação do que as partes ativas, já que a sua excreção é mais dependente da *clearance* renal. Assim, os testes que se têm produzido para avaliar a concentração dos peptídeos natriuréticos, por ocasião de doença cardíaca, têm sido substancialmente dedicados à deteção de NT-proBNP, visto que os seus níveis no sangue se relacionam com a gravidade da doença cardíaca em questão (Solter, 2007; Ettinger *et al.*, 2010; Machen *et al.*, 2014; Fox *et al.*, 2011)

Todos os peptídeos natriuréticos têm funções semelhantes ao combater a perda de função do miocárdio. Como já foi mencionado, há um homólogo do ANP que é produzido nos rins – a urodilatadina. Esta hormona é produzida nos túbulos distais e possui uma função local na regulação de sódio e volume de fluidos nos rins, diminuindo a secreção de renina na mácula densa, inibindo a libertação de aldosterona da zona glomerulosa da adrenal e inibindo a reabsorção de água e sódio. Relativamente ao BNP, após a sua libertação irá haver indução de diurese e natriurese não só pela ação local, mas também pelo aumento da taxa de filtração glomerular. Poderá haver também inibição do sistema nervoso simpático cardíaco e do SRAA pela supressão dos níveis de norepinefrina e aldosterona. Adicionalmente, o BNP também exerce funções anti-proliferativas, anti-fibróticas e relaxantes do músculo cardíaco e da vasculatura, providenciando, assim, um mecanismo de proteção cardíaco (van Kimmenade & Januzzi Jr., 2009). Em suma, o ANP e o BNP ligam-se a recetores peptídicos natriuréticos-A (NPR-A), mediando a natriurese, a inibição de renina, a vasodilatação (diminuindo a resistência vascular sistémica e pulmonar), a anti-mitogénese e efeitos lusitrópicos no coração (Oyama, 2009).

Na prática clínica os valores de NT-proBNP podem estar aumentados em casos de hipertiroidismo, hipertensão sistémica, hipertensão pulmonar, dilatação do átrio esquerdo acompanhada de insuficiência cardíaca, cardiomiopatia hipertrófica, cardiomiopatia dilatada, animais com azotémia, dirofilariose, doença pulmonar intersticial crónica, entre outros. É de salientar que uma das funções mais importantes da medição do NT-proBNP prende-se na discriminação da etiologia de dispneia, taquipneia ou tosse, ou seja, se se trata de uma causa cardíaca ou de uma causa com origem no aparelho respiratório. O NT-proBNP tem potencial para diferenciar animais saudáveis de animais com CMH oculta ou de animais em

insuficiência cardíaca, sendo também possível medir os níveis desta hormona no fluido pleural de gatos com efusão pleural para despistar causas cardíacas *versus* não cardíacas. É importante notar que visto existirem muitas situações que levam ao aumento da hormona, a probabilidade de existirem falsos-positivos, ou seja, a probabilidade de o peptídeo estar aumentado sem ser na presença de CMH é considerável. Assim, deve ser evitada a sua quantificação indiscriminadamente, ou seja, sem ter sinais clínicos que nos levem a suspeitar de doença cardíaca, não obstante de em gatos frequentemente não estarem presentes (Ettinger *et al.*, 2010; Oyama *et al.*, 2013).

Com o intuito de pôr em prática esta informação, os laboratórios IDEXX desenvolveram um teste – Cardiopet™ proBNP Test – para cães e gatos que quantifica o NT-proBNP. Segundo as *guidelines* do laboratório, o teste deve ser utilizado para: diferenciar doença respiratória de doença cardíaca, identificar gatos com cardiomiopatia oculta, estadiar a doença e monitorizar a sua progressão e para avaliar a resposta do indivíduo à terapêutica. Os laboratórios IDEXX delinearam os seguintes valores de referência (IDEXX Laboratories, 2010):

<b>Gatos</b>	<p style="text-align: center;">&lt; 100 pmol / L Doença cardíaca não provável</p>
	<p style="text-align: center;">100 – 270 pmol / L Pode haver início do desenvolvimento de doença cardíaca. Repetir o teste entre 3 a 6 meses ou considerar ecocardiografia</p>
	<p style="text-align: center;">&gt; 270 pmol / L Doença cardíaca provável. Ecocardiografia recomendada</p>

Tabela 2: Valores de referência de NT-proBNP em gatos (adaptado de IDEXX Laboratories, 2014)

<b>Cães</b>	<p style="text-align: center;">&lt; 900 pmol / L Probabilidade dos sinais clínicos serem devidos a insuficiência cardíaca é baixa</p>
	<p style="text-align: center;">900 – 1800 pmol / L Há provável aumento da distensão dos sarcômeros e <i>stress</i> do miocárdio mas o diagnóstico não é conclusivo. Repetir o teste ou considerar ecocardiografia</p>
	<p style="text-align: center;">&gt; 1800 pmol / L Probabilidade dos sinais clínicos serem devidos a insuficiência cardíaca é alta. Ecocardiografia recomendada</p>

Tabela 3: Valores de referência de NT-proBNP em cães (adaptado de IDEXX Laboratories, 2013)

Recentemente, um novo teste semiquantitativo (Gordon, 2014) que quantifica o NT-proBNP foi desenvolvido pelos laboratórios IDEXX - SNAP® Feline proBNP Test. Este difere do primeiro, no sentido em que é um teste realizado na altura em que o paciente está a ser avaliado pelo médico veterinário e apenas pode ser utilizado em felinos. O SNAP® Feline proBNP Test relaciona-se com o Cardiopet™ proBNP Test da seguinte forma: Os resultados visuais do SNAP® Feline proBNP Test demonstram uma correlação de 99,5 % (IC 95 %: 97,1 – 99,9) com o Cardiopet™ proBNP Test se a amostra tem uma concentração de NT-proBNP < 100 pmol/L (n = 187) e de 95,0 % (IC 95 %: 90,0 – 97,5) se a amostra tem uma concentração de NT-proBNP ≥ 270 pmol / L (n = 140) (IDEXX Laboratories, 2014b).

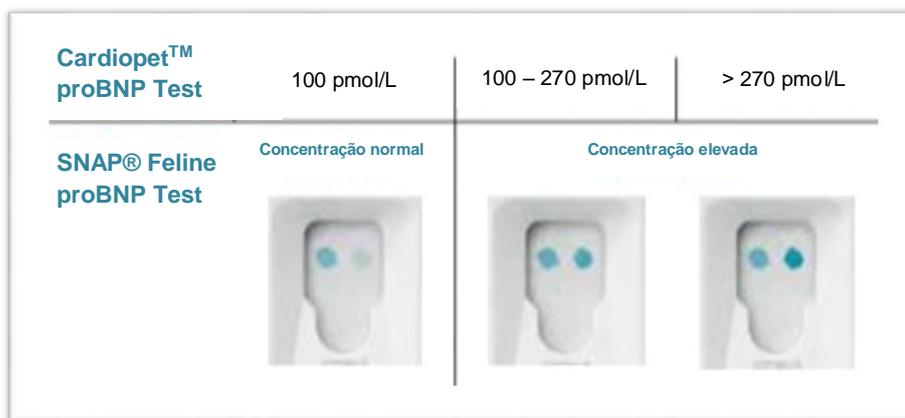


Figura 7: Associação entre os valores de referência do Cardiopet™ proBNP Test felino com o resultado do SNAP® Feline pro BNP Test (adaptado de IDEXX Laboratories, 2014)

A investigação na área dos biomarcadores é bastante importante, uma vez que a presença de determinadas concentrações de moléculas específicas no organismo de um animal, pode sugerir aos veterinários o aprofundamento de suspeitas clínicas. Por exemplo, seria enriquecedor possuir testes de triagem mais sensíveis que detetassem a isquémia do miocárdio que precede o enfarte. De facto, muitos candidatos a biomarcadores constituem proteínas citosólicas, nomeadamente a proteína cardíaca ligante de ácidos gordos (hFABP), uma vez que já se verificou que pode ser mais sensível que as troponinas na monitorização da lesão miocárdica em pacientes com insuficiência cardíaca (Solter, 2007). No entanto, se traçarmos um perfil bioquímico das troponinas, conjuntamente com a hFABP, poderemos obter um resultado mais conclusivo desde estadios precoces da doença, visto que a hFABP não é específica para lesões cardíacas e pode ser encontrada em poucas quantidades no músculo-esquelético, rins e outros tecidos (Yonewaza, Fernandes da Silveira, Machado, & Kohayagawa, 2009). É ainda de fazer menção a um outro possível biomarcador – a albumina modificada pela isquémia (IMA). Geralmente a albumina plasmática possui afinidade para se ligar a metais pesados como o cobre ou o cobalto. No entanto, como esta proteína é modificada bioquimicamente em situações de isquémia, esta deixa de possuir a

sua afinidade característica. Por espectrofotometria quantificamos a quantidade de cobalto remanescente que não se ligou à albumina, obtendo a IMA (Yonewaza *et al.*, 2009).

#### 2.1.1.4.2.4.1. Utilidade do NT-proBNP na detecção de Cardiomiopatia Hipertrófica Felina

Como já mencionado anteriormente, a quantificação do NT-proBNP é uma ferramenta útil nos casos de cardiomiopatia hipertrófica felina. A sua produção é estimulada pela isquemia, hipoxia e distensão exagerada das células musculares do miocárdio (Fuentes & Wilkie, 2017). Estudos mostram que a ativação neurohormonal ao nível das células do miocárdio como método compensatório da doença cardíaca tem um impacto exuberante na hipertrofia progressiva do miocárdio, na remodelação cardíaca, na fibrose do miocárdio e na progressiva dilatação das cavidades cardíacas (Rush, 2016). Assim, surgiu o entusiasmo na investigação deste biomarcador, uma vez que interfere com a cascata hormonal e a sua concentração sanguínea sugere o nível de gravidade da afeção cardíaca.

A detecção de cardiomiopatia subclínica é muitas vezes desafiante devido à falta de sinais clínicos presentes no paciente (*e.g.*: nem todos os gatos com CMH têm sopro), a par da indisponibilidade financeira para uma ecocardiografia, apesar de este exame ser o *gold standard* para o diagnóstico definitivo. Assim, foi desenvolvido o SNAP® Feline proBNP Test que é um teste de triagem que pode ser utilizado no momento da avaliação clínica do paciente, contudo é de salientar que o teste não distingue qual a doença cardíaca, apenas sugere a presença de alterações morfológicas e funcionais no coração. É um teste que tem como base uma ELISA colorimétrico e fluxos bidirecionais. Os resultados do teste são semiquantitativos e são baseados na cor da amostra quando comparada com a cor do controlo. A densidade da cor pode ser avaliada visualmente ou com um aparelho eletrónico específico (Machen *et al.*, 2014; Oyama *et al.*, 2013). As diferentes intensidades de cor relacionam-se com concentrações sanguíneas específicas, como já explicado anteriormente.

Desta forma, alguns estudos, dedicando-se à investigação do NT-proBNP pelo SNAP, constataram que a sua avaliação discrimina cardiomiopatia oculta de ausência de cardiomiopatia com sensibilidade e especificidade consideráveis, mas é mais eficaz a diferenciar gatos saudáveis daqueles com doença avançada e grave (Machen *et al.*, 2014; Oyama *et al.*, 2013; Harris *et al.*, 2017; Fuentes & Wilkie, 2017). Concentrações plasmáticas inferiores a 100 pmol / L indicam maior probabilidade de ausência de alterações estruturais e funcionais. Valores entre os 100 e 270 pmol / L indicam a possibilidade de existirem alterações cardíacas e, porventura, o início do desenvolvimento de insuficiência cardíaca, devendo proceder-se à realização de outros exames complementares de diagnóstico

(Gordon, 2014). Concentrações plasmáticas que excedem os 270 pmol / L sugerem fortemente a presença de insuficiência cardíaca congestiva como causa dos sinais clínicos provavelmente presentes (Harris *et al.*, 2017). Oyama *et al.* (2013), Machen *et al.* (2014) e Harris *et al.* (2017) defendem que a probabilidade de um gato positivo no SNAP® Feline proBNP Test ser realmente positivo, depende diretamente da prevalência da doença na população. Assim, uma avaliação indiscriminada dos animais numa população com baixa probabilidade de doença cardíaca, poderá resultar num aumento de número de falsos-positivos. O SNAP® Feline proBNP Test deve ser, portanto, utilizado num grupo de felinos que sejam suspeitos de ter cardiomiopatia pela presença de sopro, ritmo galope ou arritmia, por exemplo. Harris *et al.* (2017) defende que clinicamente um teste cujo resultado seja normal, mas que hajam indícios de doença cardíaca como cardiomegália, por exemplo, outros exames complementares de diagnóstico devem ser realizados.

De facto, este teste tem-se tornado bastante útil, nomeadamente para distinguir a causa de determinados sinais clínicos (*e.g.*: dispneia, taquipneia ou tosse). Isto porque estes sinais podem surgir por doença cardíaca ou por doença respiratória (*e.g.*: pneumonia, asma felina ou neoplasia) e, muitas vezes, o exame físico ou as radiografias torácicas tornam-se ambíguos. Nestes casos, a avaliação do NT-proBNP orientará o diagnóstico (Gordon, 2014). Outra utilidade benéfica do teste prende-se na avaliação de rotina de gatos geriátricos para o eventual despiste de doença cardíaca grave (IDEXX Laboratories, 2014).

Como já estudado, o hipertiroidismo, a hipertensão arterial ou a doença renal crónica podem conduzir a um aumento da concentração de NT-proBNP no sangue, logo há que ter esses dados em consideração, quando avaliamos um animal com o SNAP® Feline proBNP Test (IDEXX Laboratories, 2014).

Como qualquer proteína do sangue, o NT-proBNP está sujeito a variações diárias que, tipicamente, serão inferiores a 10 pmol / L, mas poderão ir até aos 100 pmol / L (Gordon, 2014). Ora, devido a estas alterações, deve sempre interpretar-se os resultados à luz do quadro clínico do animal em questão.

### 3. INVESTIGAÇÃO SOBRE A CONTRIBUIÇÃO DO SNAP® FELINE ProBNP TEST COMO FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO NA CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA FELINA

A cardiomiopatia hipertrófica é a doença cardíaca mais comum em gatos, afetando muitos aparentemente saudáveis que não demonstram sinais clínicos até, eventualmente, ocorrer morte súbita. Esta forma assintomática é desafiante de diagnosticar, salientando ainda que a sua morfologia pode ser muito variável. Por outro lado, há animais que vão demonstrando alguns sinais clínicos e, por isso, o desenvolvimento de insuficiência cardíaca congestiva é progressivo. Os sopros e ritmos de galope estão presentes de forma variável, sendo, por vezes, difíceis de ouvir o que contribui para a dificuldade de diagnóstico de CMH. A prevalência de CMH vai aumentando com a idade (Payne *et al.*, 2015; Wess, Daisenberger, Mahling, Hirschberger, & Hartmann, 2011; Fox *et al.*, 2011). Como já estudado, os peptídeos natriuréticos são, predominantemente, secretados por ocasião de um aumento de pressão, aumento de volume ou aumento da distensão dos sarcómeros no coração. Desta forma, têm suscitado muito interesse clínico, uma vez que podem facilitar o diagnóstico de doença cardíaca, a predizer o seu prognóstico e a ajudar na elaboração de uma estratificação de risco da doença (Fox *et al.*, 2009).

O SNAP® Feline ProBNP Test surgiu com base nestas vantagens, tendo como objetivo quantificar o NT-proBNP, proporcionando, principalmente, a análise do peptídeo em situações de urgência (obtendo resultados em 10 minutos) ou em situações em que a ecocardiografia não é um meio de diagnóstico possível (Harris *et al.*, 2017), entre outras. Assim, nesta dissertação estudou-se a contribuição deste teste no diagnóstico de CMH, uma vez que ainda é relativamente recente e há dois estudos sobre a sua utilidade clínica.

#### 3.1. Objetivos

- Verificar de que forma a cardiomiopatia hipertrófica felina se relaciona com os resultados do SNAP® Feline proBNP Test.
- Estudar a relação entre os resultados do SNAP® Feline proBNP Test com os parâmetros ecocardiográficos definidos e avaliados na cardiomiopatia hipertrófica felina.
- Verificar se o hipertiroidismo, a hipertensão arterial sistémica e a doença renal crónica condicionam a positividade do SNAP® Feline proBNP Test.

## **3.2. Materiais e Métodos**

### **População em estudo**

Neste estudo foram utilizados 21 felinos acompanhados no Hospital Veterinário do Restelo. Destes 21 felinos, 5 eram saudáveis e, portanto, foram incluídos na categoria dos testemunhos e 16 incorporaram a categoria dos gatos com cardiomiopatia hipertrófica. A categoria dos testemunhos incluiu maioritariamente gatos que foram sujeitos a procedimentos cirúrgicos simples (e.g.: ovariohisterectomia) ou que foram sujeitos a uma avaliação de rotina. Eram gatos sem história clínica relevante, com exame físico normal, sem alterações sistémicas ou metabólicas e os parâmetros a avaliar na ecocardiografia estavam dentro dos valores de referência. Como é expectável, a categoria dos gatos com cardiomiopatia hipertrófica incluiu gatos com e sem sinais clínicos, criando-se, assim, duas subcategorias distintas: 10 felinos com cardiomiopatia hipertrófica assintomática e 6 felinos com cardiomiopatia hipertrófica sintomática.

### **Crítérios de inclusão e exclusão**

Em todas as categorias foi feita uma avaliação aos sinais clínicos presentes, à pressão arterial sistémica, à ureia e creatinina sanguíneas e uma avaliação ecocardiográfica. O despiste de hipertiroidismo apenas foi feito se justificado pela presença de sinais clínicos que indicassem a sua necessidade.

Gatos com doença sistémica grave, doenças cardíacas congénitas, outros tipos de cardiomiopatia felina, neoplasias ou outras situações que pudessem influenciar a concentração sanguínea de NT-proBNP foram eliminados do estudo. Gatos com hipertiroidismo, hipertensão arterial sistémica e doença renal crónica foram incluídos no estudo, visto que se pretendia avaliar se condicionam a positividade do teste e sabe-se que podem predispor para o desenvolvimento de cardiomiopatia hipertrófica felina, influenciando as concentrações sanguíneas de NT-proBNP.

### **Recolha e preparação da amostra**

Em primeiro lugar, foram avaliados e recolhidos os sinais clínicos presentes de cada felino. Os principais sinais clínicos avaliados foram aqueles relacionados com a presença de insuficiência cardíaca (e.g.: dispneia, taquipneia, tosse ou paraplegia / paraparésia pelo tromboembolismo arterial) e que marcam a distinção entre o grupo assintomático e sintomático. Posteriormente, foi feito um hemograma no aparelho *Mindray BC-5000 VET*, análises bioquímicas no aparelho *Spotchem EZ SP-4430* e mediu-se a pressão arterial num medidor de pressões oscilométrico *SunTech*. O sangue foi colhido por punção venosa das veias jugular, cefálica ou safena e foi transferido para tubos com EDTA e com heparina. O

despiste de hipertiroidismo foi efetuado quando assim necessário, recolhendo-se sangue para tubo seco. Em seguida, foram realizadas ecocardiografias em todos os gatos submetidos a este estudo, com o intuito de classificar a cardiomiopatia. Por último, o sangue colhido em EDTA para a realização das análises sanguíneas foi aproveitado para a realização do SNAP® Feline proBNP Test.

### **Ecocardiografia**

A ecocardiografia foi realizada por dois veterinários do Hospital Veterinário do Restelo, cuja área de interesse é a cardiologia e sem recurso à sedação dos animais. O aparelho utilizado foi o *Mylab Seven* com sonda microconvexa 3-8 MHz. Os felinos foram contidos em decúbitos laterais esquerdo e direito, de modo a obter os diversos cortes ecográficos do coração. Os parâmetros ecocardiográficos a ser avaliados foram: o *ratio* entre o diâmetro atrial esquerdo e o diâmetro da aorta (*ratio* AE / Ao); o espessamento da parede posterior / livre do ventrículo esquerdo em telediástole (PPVEd); o espessamento do septo interventricular em telediástole (SIVd); a fração de ejeção; a fração de encurtamento; o movimento sistólico anterior da válvula mitral (SAM); os fluxos valvulares (mitral, tricúspide, pulmonar e aórtico) e a frequência cardíaca. Os felinos foram considerados livres de CMH quando a PPVEd e o SIVd tinham uma espessura inferior a 6 mm, o *ratio* AE / Ao era inferior a 1.5, não havia evidências de arritmias cardíacas e não havia alterações nos fluxos sanguíneos (Harris *et al.*, 2017).

### **SNAP® Feline proBNP Test**

Com o fim de estudar uma associação estatística entre os resultados do SNAP® Feline proBNP Test, os parâmetros ecocardiográficos na cardiomiopatia hipertrófica felina e a influência de doenças sistémicas, foram requeridos aos laboratórios IDEXX 30 testes rápidos. Este teste caracteriza-se por um fluxo bidireccional e por um ELISA colorimétrico. O sangue colhido anteriormente foi centrifugado durante aproximadamente 3 minutos até se obter o plasma, sendo este transferido na quantidade de 3 gotas para um *ependorf* que contivesse 5 gotas de conjugado de anti-galinha: HRPO / anti-NT proBNP. O plasma e o conjugado devem ser misturados por inversão do *ependorf* cerca de 3 a 5 vezes. Posteriormente, a amostra é colocada no SNAP® Feline proBNP Test, aguardando-se 10 minutos até se obter o resultado.

Para analisar estatisticamente os resultados criaram-se três classes de animais com base nas três cores possíveis de se obter no teste: a Classe I, cujo resultado do SNAP® Feline proBNP Test teve uma cor menos intensa que a cor do controlo do teste e é considerado um resultado negativo; a Classe II, cuja intensidade de cor do teste foi similar à intensidade de cor do controlo do teste e é considerado um resultado positivo e a Classe III cuja intensidade

de cor do teste foi superior à intensidade de cor do controlo do teste e é considerado um resultado positivo-forte.



Figura 8: SNAP® Feline proBNP Test com resultado negativo, equivalente à Classe I (fotografia obtida num dos casos estudados)

Em cada classe foram estudados todos os parâmetros relevantes, entre os quais: intervalo de idades, prevalência do sexo, presença de sinais clínicos, hipertensão arterial, doença renal crónica, hipertiroidismo e estudo da variação de determinados parâmetros ecocardiográficos (*ratio* AE / Ao, SAM, PPVEd, SIVd, fluxo e regurgitação mitral e frequência cardíaca). É ainda de salientar que os parâmetros ecocardiográficos foram comparados entre as três classes, com o objetivo de observar como variam relativamente às diferentes concentrações de NT-proBNP sanguíneas.

### **Análise estatística**

Todos os dados recolhidos no presente estudo foram registados no programa Excel e a posterior análise estatística foi elaborada no programa R. As normalidades das variáveis quantitativas foram avaliadas pelo teste *Shapiro-Wilk* e as comparações entre as médias e medianas nas três classes foram efetuadas por uma análise de variância (ANOVA), com teste de *Tuckey a posteriori*. Relativamente às variáveis qualitativas, as suas associações foram estudadas pelo teste do  $\chi^2$  (Qui-quadrado) ou teste exato de *Fisher*. A utilidade clínica do SNAP® Feline proBNP Test em diferenciar gatos normais e não normais foi avaliada pela sensibilidade e especificidade. Nesta análise estatística foram consideradas significativas as associações com um  $p < 0.05$ .

### 3.3. Resultados

#### **Análise Estatística Descritiva**

No presente estudo foram avaliados 21 gatos recrutados do Hospital Veterinário do Restelo, dos quais 3 gatos eram Persa, 1 gato era Siamês e 17 gatos eram Europeu Comum. O estudo incluiu 10 (47.62 %) fêmeas e 11 (52.38 %) machos, cuja idade mediana [IIQ] foi 11 [1-18]. De entre os 21 gatos estudados, 4 (19.05 %) tinham doença renal crónica, 6 (28.57 %) tinham hipertiroidismo e 4 (19.05 %) tinham a hipertensão arterial.

Do total de gatos em estudo, 5 (23.81 %) pertencem à categoria dos testemunhos, 10 (47.62 %) pertencem à categoria com cardiomiopatia hipertrófica assintomática e 6 (28.57 %) pertencem à categoria com cardiomiopatia hipertrófica sintomática. Ou seja, 16 (76,19 %) gatos tinham cardiomiopatia hipertrófica felina no momento dos exames.

Relativamente às classes, obtiveram-se 16 (76.19 %) gatos na Classe I, entre os quais 5 (23,81 %) gatos testemunhos, 2 (9.52 %) gatos na Classe II e 3 gatos (14.29 %) na Classe III.

É importante mencionar ainda a panóplia de sinais clínicos que foram detetados, por ocasião do exame físico a cada animal. Na Classe I observaram-se animais sem quaisquer sinais clínicos e animais com sopro, taquicardia, perda de peso, ritmo galope, prostração, arritmias, poliúria e polidipsia (PU / PD), dispneia e desidratação. Na Classe II observaram-se animais com prostração, taquipneia, ritmo galope, edema pulmonar, tromboembolismo arterial e dispneia. Por fim, na Classe III observaram-se animais com sopro, tromboembolismo arterial, efusão pleural e arritmias.

Intensidade da cor do SNAP	Idade	Cardiomiopatia Hipertrófica		Categoria			Sexo		Doença Renal Crônica		Hipertiroidismo		Pressão Arterial	
				Testemunho	Assintomático	Sintomático	Macho	Fêmea	Não	Sim	Não	Sim	Aumentada	Normal
		Sim	Não											
Classe I	11 [1-18]	16	5	5	9	2	7	9	12	4	11	5	3	13
Classe II	5 [2-8]	2	0	0	0	2	1	1	2	0	1	1	0	2
Classe III	10 [7-14]	3	0	0	1	2	3	0	3	0	3	0	1	2

Intensidade da cor do SNAP	Ecocardiografia									
	SIVd	PPVEd	ratio AE / Ao	Frequência Cardíaca	SAM		Fluxo Mitral		Regurgitação Mitral	
					Presente	Ausente	Normal	Restritivo	Presente	Ausente
Classe I	6.20 [4.1-8.8]	6.15 [4.1-7.1]	1.275 [1.1 – 1.9]	187.5 [165-248]	7	9	14	2	4	12
Classe II	7.05 [6.0 – 8.1]	6.95 [6.6 – 7.3]	1.900 [1.6 – 2.2]	205.0 [200 – 210]	0	2	1	1	1	1
Classe III	7.10 [6.4-8.0]	7.60 [6.9 – 7.9]	2.200 [1.2 – 3.9]	210 [191-280]	2	1	1	2	2	1

Tabela 4: Resultados obtidos incluindo o grupo testemunho

Intensidade da cor do SNAP	Idade	Cardiomiopatia Hipertrófica		Categoria		Sexo		Doença Renal Crônica		Hipertireoidismo		Pressão Arterial	
		Sim	Não	Assintomático	Sintomático	Macho	Fêmea	Não	Sim	Não	Sim	Aumentada	Normal
Classe I	13 [5-18]	16	0	9	2	7	4	7	4	6	5	3	8
Classe II	5 [2-8]	2	0	0	2	1	1	2	0	1	1	0	2
Classe III	10 [7-14]	3	0	1	2	3	0	3	0	3	0	1	2

Intensidade da cor do SNAP	Ecocardiografia									
	SIVd	PPVEd	ratio AE / Ao	Frequência Cardíaca	SAM		Fluxo Mitral		Regurgitação Mitral	
					Presente	Ausente	Normal	Restritivo	Presente	Ausente
Classe I	6,40 [5,5 - 8,8]	6,70 [5,8 - 7,1]	1,3 [1,1 - 1,9]	190 [170 - 248]	7	4	9	2	4	7
Classe II	7,05 [6,0 - 8,1]	6,95 [6,6 - 7,3]	1,9 [1,6 - 2,2]	205 [200 - 210]	0	2	1	1	1	1
Classe III	7,10 [6,4 - 8,0]	7,60 [6,9 - 7,9]	2,2 [1,2 - 3,9]	210 [191 - 280]	2	1	1	2	2	1

Tabela 5: Resultados obtidos não incluindo o grupo testemunho

## **Análise Estatística Inferencial**

Na variável cardiomiopatia hipertrófica verificou-se que a Classe I foi caracterizada pela presença de 5 gatos testemunho e 11 gatos com cardiomiopatia hipertrófica, a Classe II foi assinalada pela presença de 2 gatos com cardiomiopatia hipertrófica e a Classe III contou com a presença de 3 gatos com cardiomiopatia hipertrófica. Assim, não se pode afirmar que existe uma associação entre intensidade de cor do SNAP e presença de cardiomiopatia hipertrófica felina ( $p = 0.3587$ ).

No que diz respeito à idade verificou-se que na Classe I a mediana [IIQ] foi 11 [1-18], na Classe II a mediana [IIQ] foi 5 [2-8] e na Classe III a mediana [IIQ] foi 10 [7-14]. Assim, não é possível afirmar que haja uma diferença significativa da idade entre as três classes ( $p = 0.454$ ).

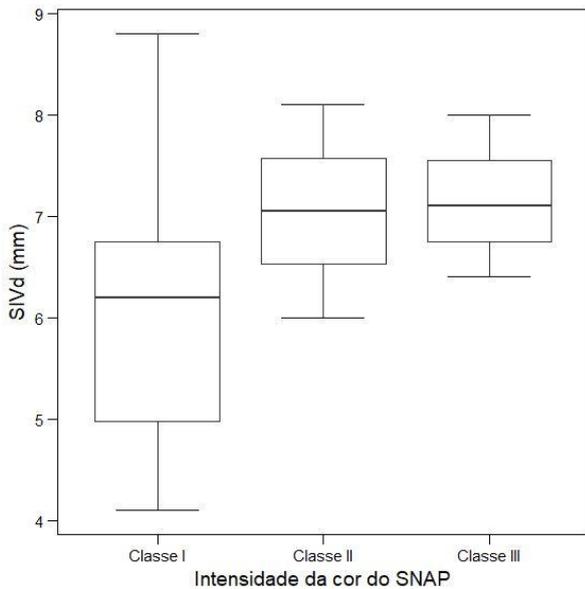
Na variável sexo observou-se que a Classe I foi assinalada por 7 machos e 9 fêmeas, a Classe II foi caracterizada pela presença de 1 macho e 1 fêmea e a Classe III teve 3 machos e 0 fêmeas. Assim, não se pode afirmar que haja uma associação entre intensidade de cor do SNAP e sexo ( $p = 0.2009$ ).

Na variável categoria, a Classe I obteve 5 animais testemunhos, 9 animais assintomáticos e 2 animais sintomáticos. A Classe II caracterizou-se pela presença de 0 animais testemunhos, 0 animais assintomáticos e 2 animais sintomáticos e na Classe III verificou-se a presença de 0 animais testemunhos, 1 animal assintomático e 2 animais sintomáticos. Desta forma, não se pode afirmar que haja uma associação entre as variáveis ( $p = 0.05109$ ).

Na variável doença renal crônica obtiveram-se 12 animais negativos e 4 animais positivos na Classe I, 2 animais negativos e 0 animais positivos na Classe II, 3 animais negativos e 0 animais positivos na Classe III, não havendo associação entre as variáveis ( $p = 0.4621$ ).

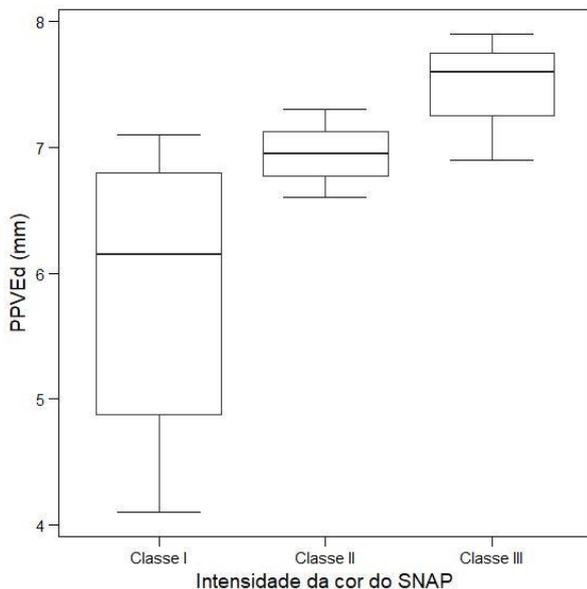
Na variável hipertiroidismo, a Classe I caracterizou-se por 11 casos negativos e 5 casos positivos, a Classe II teve 1 caso negativo e 1 caso positivo e, por fim, a Classe III foi assinalada por 3 casos negativos e 0 casos positivos. Não se pode afirmar que exista associação entre variáveis ( $p = 0.4261$ ).

No que diz respeito à variável pressão arterial obtiveram-se 3 animais com hipertensão e 13 animais normais na Classe I, 0 animais com hipertensão e 2 animais com pressão arterial normal na Classe II e 1 animal com hipertensão e 2 animais normais na Classe III. Assim, não há associação entre as variáveis ( $p = 0.6477$ ).



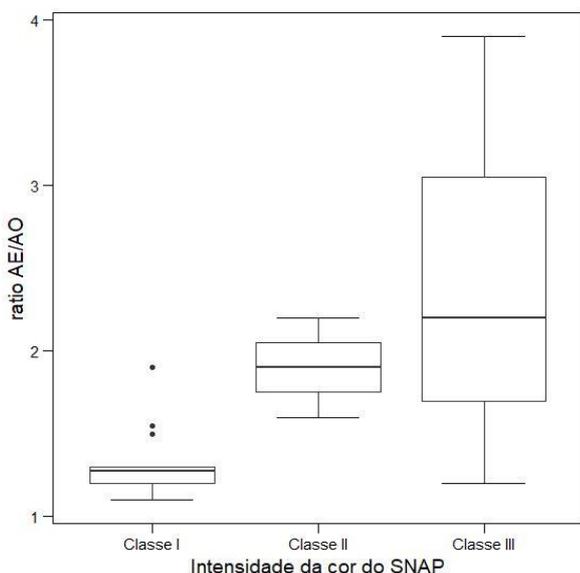
Relativamente às variáveis ecocardiográficas verificou-se que na Classe I a mediana do SIVd [IIQ] foi 6.20 [4.1-8.8], na Classe II a mediana [IIQ] foi 7.05 [6.0 – 8.1] e na Classe III a mediana [IIQ] foi 7.10 [6.4-8.0]. Assim, não é possível afirmar que haja uma diferença significativa do SIVd entre as três classes ( $p = 0.413$ ).

Gráfico 1: Box Plot da variação do parâmetro ecocardiográfico SIVd nas diferentes classes



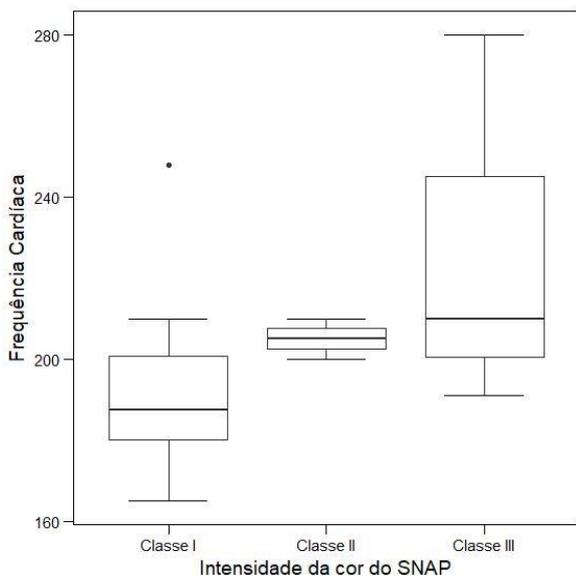
A mediana da PPVEd na Classe I [IIQ] foi 6.15 [4.1-7.1], na Classe II a mediana [IIQ] foi 6.95 [6.6 – 7.3] e na Classe III a mediana [IIQ] foi 7.60 [6.9 – 7.9]. Relativamente à PPVEd pode afirmar-se que há uma diferença significativa na sua espessura entre cada classe ( $p = 0.0413$ ).

Gráfico 2: Box Plot da variação do parâmetro ecocardiográfico PPVEd nas diferentes classes



A mediana do *ratio* AE / Ao na Classe I [IIQ] foi 1.275 [1.1 – 1.9], na Classe II a mediana [IIQ] foi 1.900 [1.6 – 2.2] e na Classe III a mediana [IIQ] foi 2.200 [1.2 – 3.9]. É possível afirmar a presença de uma diferença significativa no *ratio* AE / Ao entre as diferentes classes ( $p = 0.00539$ ).

Gráfico 3: Box Plot da variação do parâmetro ecocardiográfico *ratio* AE / Ao nas diferentes classes



A mediana da frequência cardíaca na Classe I [IIQ] foi 187.5 [165-248], na Classe II a mediana [IIQ] foi 205.0 [200 – 210] e na Classe III a mediana [IIQ] foi 210 [191-280], não havendo diferença significativa da frequência cardíaca entre classes ( $p = 0.0802$ ).

Gráfico 4: Box Plot da variação do parâmetro ecocardiográfico frequência cardíaca nas diferentes classes

Ao estudar a variável SAM na Classe I obtiveram-se 9 animais sem SAM e 7 com SAM, na Classe II obtiveram-se 2 animais sem SAM e 0 animais com SAM e na Classe III houve 1 animal sem SAM e 2 com SAM. Assim, não se pode afirmar a presença de uma associação entre variáveis ( $p = 0.3329$ ).

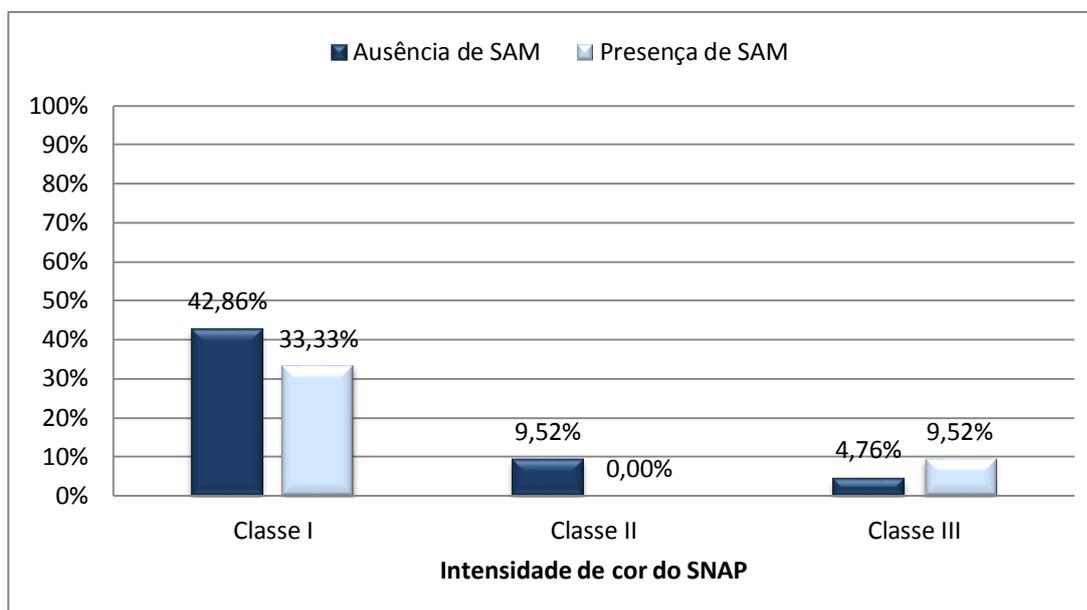


Gráfico 5: Gráfico de frequências do parâmetro ecocardiográfico SAM nas diferentes classes

Na variável fluxo mitral a Classe I foi caracterizada por 14 animais com fluxo normal e 2 animais com fluxo restritivo, na Classe II obteve-se 1 animal com fluxo normal e 1 animal com fluxo restritivo e a Classe III foi assinalada por 1 animal com fluxo normal e 2 animais com fluxo restritivo, não havendo associação entre variáveis ( $p = 0.08535$ ).

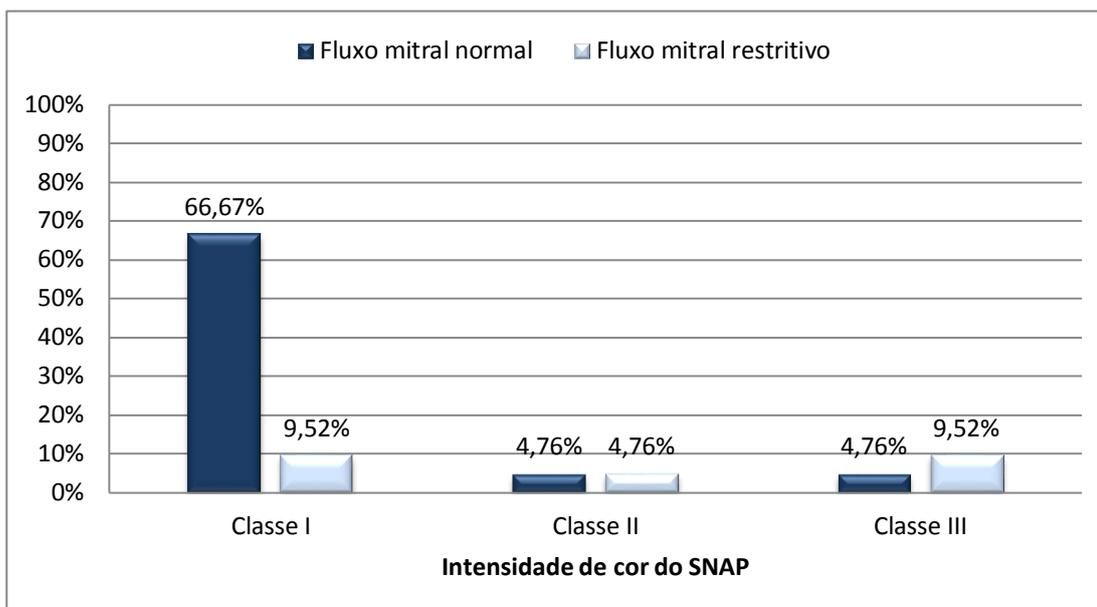


Gráfico 6: Gráfico de frequências do parâmetro ecocardiográfico fluxo mitral nas diferentes classes

Por último, na variável regurgitação mitral, obtiveram-se 12 animais negativos e 4 animais positivos na Classe I, 1 animal negativo e 1 animal positivo na Classe II e 1 animal negativo e 2 animais positivos na Classe III. Assim, não se pode afirmar a presença de uma associação entre variáveis ( $p = 0.3247$ ).

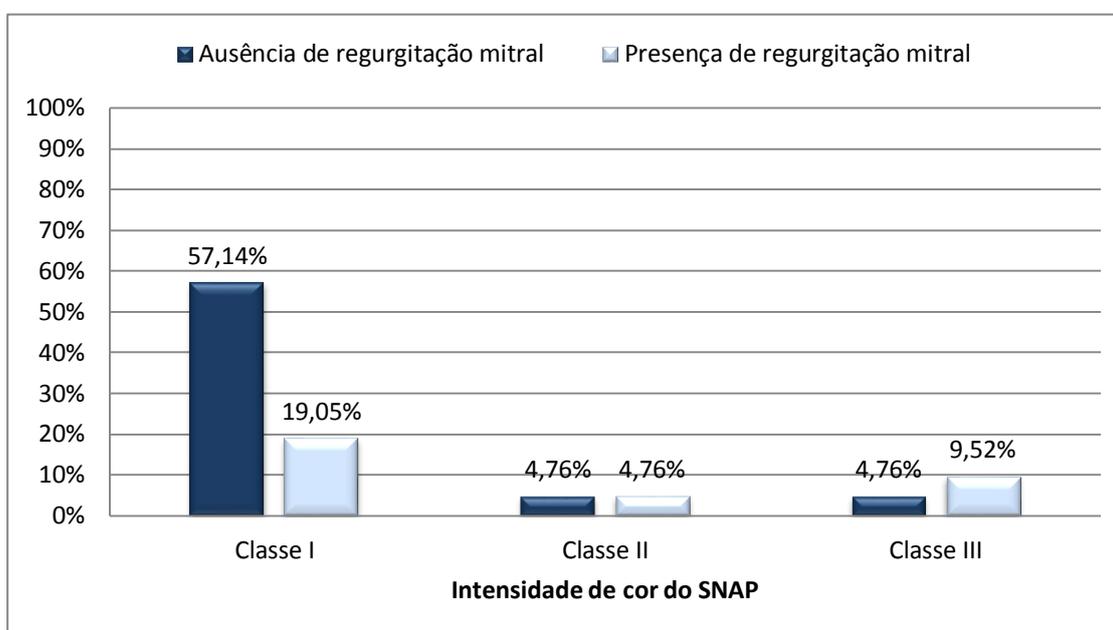


Gráfico 7: Gráfico de frequências do parâmetro ecocardiográfico regurgitação mitral nas diferentes classes

Ver tabela 4, página 30, que retrata, resumidamente, todos os resultados obtidos.

Relativamente apenas aos gatos com cardiomiopatia hipertrófica verificaram-se que os resultados foram similares (ver tabela 5, página 31). À semelhança da análise feita com os testemunhos como parte integrante da amostra, observou-se que também somente a PPVEd ( $p = 0.0315$ ) e o *ratio* AE / Ao ( $p = 0.0367$ ) é que estabeleciam uma associação com a intensidade da cor do SNAP.

Neste estudo, após a avaliação visual dos resultados do SNAP® Feline proBNP Test, concluiu-se que surgiram 11 (52,38 %) falsos negativos, culminando numa sensibilidade de 31.2 %, IC 95 % [11.0 – 58.6] e numa especificidade de 100%, IC 95 % [48 – 100]. Dos 11 falsos negativos obtidos, 9 (81,82 %) eram gatos assintomáticos, em que 6 tinham sopro e 2 (18,18 %) eram gatos sintomáticos, pela presença, entre outros, de dispneia.

### 3.4. Discussão de Resultados

As cardiomiopatias são uma causa frequente de morbidade e mortalidade cardíaca. A CMH é a mais prevalente e gatos com a sua forma oculta (assintomática) representam um desafio no diagnóstico, pois a sua morfologia e apresentação clínica é muito variável (Fox *et al.*, 2011). Assim, o objetivo primário deste projeto foi avaliar se o SNAP® Feline proBNP Test conseguiria discriminar gatos saudáveis de gatos com doença oculta e de gatos com doença grave. Apesar de a ecocardiografia ser o exame *gold standard* para o diagnóstico desta doença cardíaca (Harris *et al.*, 2017), as concentrações circulantes de NT-proBNP refletem com alguma segurança o grau de gravidade das alterações funcionais e estruturais do coração dos felinos com cardiomiopatia hipertrófica, auxiliando a orientar o diagnóstico (Tominaga, Miyagawa, Toda, & Takemura, 2011; Fox *et al.*, 2009). Contudo, não obstante destes factos, a sensibilidade deste estudo foi extremamente baixa (31,2 %) e, comparando com estudos prévios, esteve aquém do esperado, salientando-se que não existiu significância estatística entre a intensidade da cor do SNAP e a presença de CMH. Machen *et al.* (2014) obtiveram uma sensibilidade de 88.6 % com 6 falsos-negativos e Harris *et al.* (2017) obtiveram 65.4 % com 9 falsos-negativos. Uma das razões que pode ter influenciado o aparecimento de 11 falsos-negativos neste projeto é o facto de a população em estudo ser muito pequena, podendo incorrer o risco de não ser representativa da realidade. É ainda de salientar que a PPVEd destes 11 animais variou entre os 5.8 mm e os 7.1 mm. Ora, dado que o limite do espessamento da parede livre do ventrículo esquerdo em telediástole é considerado 6 mm (Harris *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2013), observou-se que o intervalo de variação da PPVEd nos 11 animais não é muito grande. Adicionalmente, a CMH é uma doença heterogénea, podendo adotar um leque de fenótipos distintos, desde hipertrofia média localizada num determinado segmento, até hipertrofia grave por todo o músculo cardíaco, ou mesmo hipertrofia condicionada somente aos músculos papilares (Sisson *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2013; Adin & Diley-Poston, 2007; Ferasin, 2009b). Assim, apesar de o ecocardiograma ser o método de imagem *gold standard* para diagnosticar cardiomiopatias em gatos, a sua interpretação pode ser desafiante. Paralelamente, a ecocardiografia apresenta algumas limitações, nomeadamente, na variabilidade dos dados relatados intra- e inter-observador que pode chegar até 20 %, dependendo dos parâmetros avaliados (Harris *et al.*, 2017; Chetboul *et al.*, 2003). Outra justificação respeitante aos testes rápidos é que podem ter existido algumas falhas na preparação das amostras de sangue com o conjugado, uma vez que foram realizados por três pessoas diferentes. É importante salientar que, tal como Machen *et al.* (2014) e Kittleson & Rishniw (2017) previram, há um *overlap* significativo entre os 100 e os 200 pmol / L, sendo que um animal que tenha concentrações dentro deste leque terá probabilidade semelhante de ter um resultado positivo ou negativo no teste. Esta previsão pode ajudar a explicar o facto de muitos animais assintomáticos

terem tido resultados negativos. No entanto, destes 11 animais, 2 eram sintomáticos, ou seja, tinham sinais de insuficiência cardíaca e, supostamente, uma concentração de NT-proBNP > 270 pmol / L. Possivelmente, estes animais podem ter uma doença respiratória não diagnosticada concomitante com cardiomiopatia hipertrófica de gravidade moderada, dado que os valores da PPVEd destes animais foram de 5.8 mm e 6.2 mm. Assim, nesta situação o NT-proBNP nunca iria aumentar tanto como num caso de dispneia por insuficiência cardíaca. Caso contrário, a razão mais plausível será a baixa sensibilidade do teste e os sinais de insuficiência cardíaca congestiva serem devido à doença cardíaca.

É também importante considerar que algumas amostras de sangue não foram refrigeradas após a sua colheita e, portanto, na altura da realização do teste podia haver algum grau de degradação da proteína NT-proBNP. O facto de alguns gatos assintomáticos estarem a ser medicados na altura dos exames pode, certamente, ter influenciado a concentração de NT-proBNP, uma vez que o coração já se encontra num estado mais compensado. Comercialmente existem dois tipos de equipamentos (SNAPshot Dx® Analyzer e o SNAP Pro Analyzer da IDEXX laboratories) que estão capacitados para interpretar os resultados do SNAP® Feline proBNP Test de forma automática. Uma vez que todas as leituras foram efetuadas visualmente, há probabilidade de os resultados não transmitirem total e inequivocamente os resultados verdadeiros, pois as diferenças de intensidade de cor são desafiantes na sua interpretação.

Já a especificidade neste estudo foi de 100 %, à semelhança de Harris *et al.* (2017), mas em contraste com Machen *et al.* (2014) que obtiveram especificidade de 81.3 %. Estas especificidades mais elevadas comparativamente às sensibilidades mostram que a capacidade do teste identificar corretamente um animal verdadeiramente negativo, isto é, de diagnosticar os animais sãos é maior do que a capacidade do teste de identificar corretamente a proporção de animais verdadeiramente positivos (Ghaaliq Lalkhen & McCluskey, 2008).

O NT-proBNP, como já estudado, é secretado das células do miocárdio sempre que há distensão dos sarcómeros, aumento da pressão nas cavidades cardíacas no fim da diástole, isquémia ou estimulação neurohormonal, no caso de haver doença cardíaca oculta / assintomática, doença cardíaca sintomática com disfunção diastólica ou casos graves de insuficiência cardíaca (Fox *et al.*, 2011; Ettinger *et al.*, 2010). Teoricamente, animais sintomáticos, ou seja, a iniciar um estadio de insuficiência cardíaca com sinais respiratórios, teriam concentrações de NT-proBNP mais elevados do que animais assintomáticos ou animais saudáveis. Da mesma forma, animais assintomáticos teriam concentrações de NT-proBNP mais elevadas do que animais saudáveis, dado que começam a ter já algumas alterações morfológicas e funcionais a nível cardíaco. Assim, seria de esperar que neste

estudo os animais saudáveis / testemunho se incorporassem na Classe I, os animais assintomáticos na Classe II e os animais sintomáticos na Classe III. Esta hipótese não é comprovada neste projeto devido ao elevado número de falsos-negativos e, portanto, à falta de associação estatística entre a intensidade da cor do SNAP e a variável categoria. Uma das principais funções clínicas deste teste é determinar se a causa dos sinais respiratórios se deve a um problema cardíaco ou a um problema no sistema respiratório (Fox *et al.*, 2009; Kittleson & Rishniw, 2017; Oyama *et al.*, 2013; Harris *et al.*, 2017; Gordon, 2014). Estudos constataram que o *cut-off* mais correto para fazer esta diferenciação é 270 pmol / L e, para animais que tenham abaixo deste valor, é provável que os sinais respiratórios sejam devido a doença respiratória e não a doença cardíaca (Harris *et al.*, 2017; Kittleson & Rishniw, 2017). Machen *et al.* (2014) mostra que todos os gatos no seu estudo com CMH grave têm concentrações de NT-proBNP > 900 pmol / L. É claro que há uma limitação em diferenciar gatos com dispneia que tenham doença respiratória primária concomitante a doença cardíaca grave (Kittleson & Rishniw, 2017), tal como presumivelmente se sucedeu neste estudo com os dois gatos sintomáticos.

Como estudado anteriormente é reportada uma predileção por felinos machos, no entanto sabe-se que o modo de transmissão à descendência é autossómica dominante e, portanto, a incidência da doença deverá ser igual em ambas as espécies. No entanto, é de ressaltar que nalguns gatos, especialmente os Maine Coon, a doença manifesta-se de uma forma mais grave e precoce, comparativamente às fêmeas, alimentando a ilusão de que há mais machos com esta afeção (Kittleson, 2011). Neste projeto observa-se que de facto há mais machos afetados do que fêmeas (4 machos e 1 fêmea). Apesar de não existir nenhum gato Maine Coon nesta amostra e destes valores não serem muito representativos, a CMH pode também possivelmente manifestar-se de forma mais precoce e acentuada noutras raças felinas.

Não obstante de Harris *et al.* (2017) e Machen *et al.* (2014) não terem incorporado na sua amostra gatos com doença renal crónica, hipertiroidismo e hipertensão arterial, este estudo teve como um dos seus objetivos estudar se estas afeções sistémicas contribuem de facto para um resultado positivo do SNAP® Feline proBNP Test, uma vez que se sabe que influenciam as concentrações da proteína. Oyama *et al.* (2013) e Lalor, Connolly, Elliott, & Syme (2009) estudaram que gatos normotensos com insuficiência renal média e grave tinham concentrações de NT-proBNP maiores do que os gatos pertencentes ao grupo de controlo. A média de NT-proBNP nos gatos gravemente afetados foi cerca de 79.8 pmol / L, comparativamente à média dos gatos do grupo controlo de cerca de 8.8 pmol / L. Assim, é importante levar em consideração as medições do peptídeo, sempre que as concentrações de creatinina são maiores do que 2,3 mg / dl. Uma das razões que desencadeia este acontecimento será a diminuição da *clearance* renal. Ainda, em casos de doença renal

crónica, acompanhados de hipertensão sistémica, também se verifica que o NT-proBNP aumenta significativamente (311.0 pmol / L), comparativamente aos animais controlo (8.8 pmol / L) (Lalor *et al.*, 2009). Estes resultados mostram-nos que a presença de hipertensão arterial tem repercussões a nível cardíaco, como por exemplo alteração da geometria ventricular, espessamento da parede livre do ventrículo esquerdo e do septo interventricular, diminuição do diâmetro do ventrículo esquerdo ou dilatação atrial, conduzindo ao aumento da concentração de NT-proBNP no sangue (Lalor *et al.*, 2009). Neste estudo, não existiram animais com doença renal crónica e resultado positivo no teste em simultâneo. Dos 4 animais com doença renal crónica que incorporaram a Classe I, 3 eram animais assintomáticos e 1 era sintomático. Desta forma, inferir sobre a influência desta afeção no resultado do SNAP é inadequado, dado que não houve associação estatística entre a presença de doença renal crónica e intensidade da cor do SNAP. Relativamente à pressão arterial, 4 animais apresentaram-se com hipertensão, porém somente 1 é que teve resultado positivo no teste. Assim, após análise estatística conclui-se que não houve associação entre hipertensão e intensidade da cor do SNAP, não sendo correto inferir sobre a influência da hipertensão com base nos dados deste estudo. Por outro lado, sabe-se que o hipertiroidismo altera a dinâmica cardiovascular, predispondo para a hipertrofia cardíaca e potencial insuficiência cardíaca e conduzindo a um aumento do NT-proBNP no sangue. Menaut *et al.* (2012) e Oyama *et al.* (2013) constataram que o restabelecimento de um estado de eutiroidismo num grupo de gatos hipertiroides resulta na diminuição da concentração de NT-proBNP no sangue. Neste estudo, apesar de terem sido registados 6 animais com hipertiroidismo, apenas 1 animal foi positivo ao teste e, por conseguinte, não se conseguiu estabelecer nenhuma associação entre a presença desta afeção e a intensidade da cor do SNAP.

Em resposta ao objetivo proposto de estudar a relação entre os resultados do SNAP® Feline proBNP Teste com os parâmetros ecocardiográficos definidos e avaliados na CMH, verificou-se que apenas a PPVEd e o *ratio* AE / Ao é que estabeleciam uma associação estatística com a intensidade da cor do SNAP. É visível a partir dos gráficos 2 e 3 (página 31) que de facto há uma diferença significativa nas médias destes parâmetros entre cada classe. Este resultado é claro, uma vez que o aumento da gravidade da CMH deve-se, sem dúvida, ao aumento do espessamento da parede ventricular, assim como ao aumento da dilatação atrial e, conseqüentemente, ao aumento do *ratio* AE / Ao e ao aumento da libertação de NT-proBNP (Fox *et al.*, 2011). Apesar dos parâmetros SIVd e frequência cardíaca não se associarem estatisticamente com as classes estabelecidas, observa-se ainda assim que as medianas aumentam de classe para classe, tanto no estudo com os animais testemunhos, como no estudo sem esses animais, suportando o facto de que há um aumento de gravidade da condição dos felinos, consoante a classe. Relativamente às

variáveis qualitativas SAM, fluxo mitral e regurgitação mitral, não se conseguiu estabelecer nenhuma associação estatística. Contudo, Fox *et al.* (2011) relatam que gatos com CMH obstrutiva tiveram concentrações de NT-proBNP significativamente maiores do que gatos com CMH não obstrutiva. Isto porque a obstrução dinâmica e a disfunção diastólica aumentam o *stress* do músculo cardíaco que será um estímulo para a secreção de NT-proBNP.

Relativamente à vasta paleta de sinais clínicos assinalados nos pacientes deste estudo, denotou-se que poucos animais tinham sopro. Este dado é sustentado por alguns estudos como Nakamura *et al.* (2011) que referem que gatos aparentemente saudáveis que se apresentam à clínica com um sopro, cerca de 50 % terão doença cardíaca e 50 % não terão ou a IDEXX Laboratories (2014) que constata que um em cada quatro gatos aparentemente saudáveis possui sopro, mas apenas 25 % destes terá evidência ecocardiográfica de cardiomiopatia. Salienta-se ainda que muitos gatos com CMH não apresentam qualquer sinal clínico na altura do diagnóstico (Ettinger *et al.*, 2010).

O maior desafio atualmente continua a ser detetar gatos com cardiomiopatia oculta, uma vez que não apresentam sinais clínicos e, portanto, quando a afeção é detetada o estadió da doença já é muito avançado ou simplesmente ocorre morte súbita. Simultaneamente, o acesso limitado a ecocardiografia, a informação reservada que nos dão o exame radiográfico e físico e o facto do SNAP® Feline proBNP Test ser ferramenta de diagnóstico pouco invasiva, de fácil acessibilidade e menos dispendiosa que a ecocardiografia, torna-o um teste útil (Wess *et al.*, 2011). O *cut-off* neste teste para a deteção da CMH oculta é cerca de > 100 pmol / L. Porém, vários estudos confirmam que o teste tem uma melhor performance a distinguir gatos saudáveis de gatos com cardiomiopatia moderada a grave, do que gatos com cardiomiopatia ligeira a moderada (Harris *et al.*, 2017; Machen *et al.*, 2014; Oyama *et al.*, 2013; Fox *et al.*, 2011; Fox *et al.*, 2009; Wess *et al.*, 2011).

Este projeto teve algumas limitações e, portanto, a repetição cuidadosa e mais extensa deste estudo será sempre uma mais-valia. Nesta repetição a amostra deve, sem dúvida, ser consideravelmente maior e os exames ecocardiográficos devem ser realizados, sempre que possível, por uma pessoa com experiência em ecocardiografia. Outra hipótese seria um grupo de cardiologistas rever as ecocardiografias efetuadas para se obter um *consensus* (Chetboul *et al.*, 2003; Fox *et al.*, 2009; Machen *et al.*, 2014; Harris *et al.*, 2017). Os testes rápidos devem, da mesma forma, ser realizados pela mesma pessoa, seguindo sempre impreterivelmente as mesmas diretrizes. Ainda de salientar que as amostras devem ser sempre refrigeradas ou misturadas com um inibidor de proteases, com o fim de impedir a degradação precoce do NT-proBNP. Seria interessante futuramente investigar a utilização

de um *ratio* que incorporasse o NT-proBNP e a concentração de ureia, creatinina ou taxa de filtração glomerular, similarmente ao *ratio* proteína creatinina amplamente utilizado. Esta ferramenta iria ajudar a estudar de que forma as concentrações de NT-proBNP variam num animal com doença renal crónica (Oyama *et al.*, 2013). Porventura, seria importante investigar uma associação entre a cTnl e o NT-proBNP, uma vez que são biomarcadores que poderiam complementar-se e fornecer informações com um grau mais elevado de precisão. De facto a cTnl é um biomarcador de lesão cardíaca e, presumivelmente, em estados de insuficiência cardíaca, as células devem ter lesões (Fox *et al.*, 2009). Oyama *et al.* (2013) referem ainda que, em cães, há uma melhor análise de risco cardíaco, aquando da combinação do NT-proBNP com a cTnl, comparativamente ao uso dos biomarcadores individualmente. Por último, Lalor *et al.* (2009) denotam uma ideia inovadora, em que se o NT-proBNP estiver consistentemente aumentado em estudos de gatos com hipertensão sistémica, então uma nova utilidade do SNAP® Feline proBNP Test será confirmar o diagnóstico de hipertensão, em gatos que não possuam sinais clínicos sugestivos de tal.

#### 4. CONCLUSÃO

No fim deste estudo concluiu-se que o SNAP® Feline proBNP Test não demonstrou uma boa performance a diferenciar os diferentes estadios de CMH, não foi possível inferir se a presença de doenças sistémicas concomitantes condicionam a positividade do SNAP® Feline proBNP Test e apenas se conseguiu determinar que existe uma associação estatística entre a PPVEd e o SNAP® Feline proBNP Test e entre o *ratio* AE / Ao e o SNAP® Feline proBNP Test.

O conjunto dos dados obtidos nesta dissertação, apesar de alguma maneira questionáveis, não elimina a hipótese de que o SNAP® Feline proBNP Test poderá ter potencial a diferenciar a etiologia dos sinais respiratórios (e.g.: dispneia) em gatos, especialmente em situações em que não há aparelhos de ecocardiografia disponíveis. Facto este sustentado por dois outros estudos anteriores (Harris *et al.*, 2017 & Machen *et al.*, 2014), não obstante de as suas sensibilidades e especificidades não terem sido adequadas.

Assim, é necessária uma investigação mais extensa nesta área, com uma amostra mais significativa e com menos fatores de variabilidade ecocardiográfica, menos variabilidade no tratamento das amostras de sangue, menos variabilidade na interpretação dos resultados obtidos no SNAP, entre outras. Além disto, como obtém resultados em 10 minutos, constitui uma ferramenta muito apelativa em casos clínicos urgentes e em situações de avaliação de rotina. Um teste que tenha resultado negativo nunca poderá excluir, indubitavelmente, a ausência de doença cardíaca, logo os animais devem, posteriormente, ser avaliados por ecocardiografia e por outros meios complementares de diagnóstico. Um resultado positivo confirma que, presumivelmente, uma doença cardíaca está presente e mais investigação deve ser feita no sentido de melhorar a qualidade de vida do paciente.

O aparecimento do SNAP® Feline proBNP Test fez, de facto, emergir novas hipóteses que, porventura, poderão auxiliar os diagnósticos atualmente desafiantes de concluir, como por exemplo a deteção de gatos com hipertensão arterial sistémica. Assim, o mundo dos biomarcadores cardíacos está a emergir cada vez mais e é uma área promissora, sendo que estes testes devem sempre fazer parte da panóplia de exames complementares que estão à disposição, de modo a proporcionar a melhor interpretação possível dos dados.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, J. A. (2010). Feline hypertrophic cardiomyopathy: An update. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 40 (4), 685–700.
- Abbott, J. A., & MacLean, H. N. (2006). Two-dimensional echocardiographic assessment of the feline left atrium. *Journal of veterinary internal medicine*, 20, 111–119.
- Adin, D. B., & Diley-Poston, L. (2007). Papillary muscle measurements in cats with normal echocardiograms and cats with concentric left ventricular hypertrophy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(4), 737–741.
- Almeida, A. L. C., Gjesdal, O., Mewton, N., Choi, E. Y., Teixido-Tura, G., Yoneyama, K., & Lima, J. A. C. (2013). Speckle-tracking pela ecocardiografia bidimensional: aplicações clínicas. *Rev. bras. ecocardiogr. imagem cardiovasc*, 26(1), 38–49.
- Apple, F. S. (1999). Tissue specificity of cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase-Mb. *Clínica Chimica Acta*, 284, 151–159.
- Atkins, C. E. (2012). Pathophysiology and diagnosis of feline cardiac disease. Acedido a 21 de Abril de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=5603789&pid=11348&>
- Beijerink, N. (2016). Diagnosis os feline cardiomyopathies - beyond hypertrophic cardiomyopathy. Em *European Veterinary Conference Voorjaarsdagen* (pp. 13–15). The Hague, Netherlands.
- Bonagura, J. D. (2017). Acquired feline cardiovascular diseases. Em *Proceeding of the LAVC Latin American Veterinary Conference* (p. 5). Lima, Peru.
- Boon, J. A. (2011). *Veterinary Echocardiography*. United Kingdom: Willey-Blackwell.
- Boswood, A. (2007). Laboratory tests for the diagnosis of heart disease and failure in dogs and cats [versão eletrônica]. Em *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association*. Sydney, Australia.
- Boyden, P. A., Tilley, L. P., Albala, A., Liu, S. K., Fenoglio, J. J., & Wit, A. L. (1984). Mechanisms for atrial arrhythmias associated with cardiomyopathy: A study of feline hearts with primary myocardial disease. *Circulation*, 69(5), 1036–1047.
- Brown, S., Atkins, C., Bagley, R., Carr, A., Cowgill, L., Davidson, M., ... Stepien, R. (2007). Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med*, 21, 542–558.
- Chetboul, V., Concordet, D., Pouchelon, J. ., Athanassiadis, N., Muller, C., Benigni, L., & Munari, A. C. (2003). Effects of inter- and intra-observer Variability on echocardiographic measurements in awake cats. *J. Vet. Med.*, 331, 326–331.
- Connolly, D. (2006). Cardiovascular effects of hyperthyroidism: part I - effects on the heart. Acedido a 21 de Abril de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=3857804&pid=11221&>
- Côté, E. (2015). Feline cardiomyopathies. Acedido a 22 de Abril de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=7259346&pid=14365&>

- Ettinger, S. J., Feldman, E. C., & Côté, E. (2010). *Textbook of veterinary internal medicine - diseases of the dog and the cat* (8<sup>a</sup> Ed.). Elsevier.
- Ferasin, L. (2009a). Feline myocardial disease 1: Classification, pathophysiology and clinical presentation. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(1), 3–13.
- Ferasin, L. (2009b). Feline myocardial disease 2: diagnosis, prognosis and clinical management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 183–194.
- Fox, P. R., Oyama, M. A., Reynolds, C., Rush, J. E., DeFrancesco, T. C., Keene, B. W., ... Hogan, D. F. (2009). Utility of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) to distinguish between congestive heart failure and non-cardiac causes of acute dyspnea in cats. *Journal of Veterinary Cardiology*, 11(SUPPL. 1), S51–S61.
- Fox, P. R., Rush, J. E., Reynolds, C. A., Defrancesco, T. C., Keene, B. W., Atkins, C. E., ... Oyama, M. A. (2011). Multicenter evaluation of plasma N-Terminal Probrain natriuretic peptide (NT-pro BNP) as a biochemical screening test for asymptomatic (occult) cardiomyopathy in cats. *J Vet Intern Med*, 25, 1010–1016.
- Fuentes, V. L. (2016). Breed-related cardiomyopathy in cats. Acedido a 25 de Abril de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=7472111&pid=15740&>
- Fuentes, V. L., & Wilkie, L. J. (2017). Asymptomatic hypertrophic cardiomyopathy: diagnosis and therapy. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 47(5), 1041–1054.
- Ghaaliq Lalkhen, A., & McCluskey, A. (2008). Clinical tests : sensitivity and specificity. Em *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain* (Vol. 8, pp. 221–223).
- Gordon, S. G. (2014). NT-proBNP testing in cats. *Cardiac Education group*. Acedido a 18 de Abril de 2018, disponível em: [http://cardiaceducationgroup.org/wp-content/uploads/2015/10/NT-ProBNP-in-Cats\\_SG\\_5-5-15.pdf](http://cardiaceducationgroup.org/wp-content/uploads/2015/10/NT-ProBNP-in-Cats_SG_5-5-15.pdf)
- Häggröm, J. (2006). Value of measuring cardiac troponins in your practise [versão eletrônica]. Em *Proceedings of the North American Veterinary Conference* (Vol. 20). Orlando, Florida.
- Harris, A. N., Beatty, S. S., Estrada, A. H., Winter, B., Bohannon, M., Sosa, I., ... Gallagher, A. E. (2017). Investigation of an N-Terminal Prohormone of Brain Natriuretic Peptide Point-of-Care ELISA in Clinically Normal Cats and Cats With Cardiac Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(4), 994–999. <https://doi.org/10.1111/jvim.14776>
- Herndon, W. E., Kittleson, M. D., Sanderson, K., Drobatz, K. J., Clifford, C. A., Gelzer, A., ... Sleeper, M. M. (2002). Cardiac troponin I in feline hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16(5), 558–564.
- IDEXX Laboratories. (2014). IDEXX SNAP® Feline proBNP Test— now use NT-proBNP at point of care to assess stretch and stress on the heart. Acedido a 5 de Maio de 2018, disponível em: [https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer\\_public/45/83/4583d3f4-daae-4626-a0d8-057825881f79/snap-felinebnp-update.pdf](https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer_public/45/83/4583d3f4-daae-4626-a0d8-057825881f79/snap-felinebnp-update.pdf)
- IDEXX Laboratories. (2014). SNAP® Feline proBNP Test - Test Accuracy. Acedido a 22 de Setembro de 2018, disponível em: [https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer\\_public/a4/6d/a46ddec6-e907-4f28-bc53-825a726c6a1c/snap-feline-probnp-test-accuracy.pdf](https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer_public/a4/6d/a46ddec6-e907-4f28-bc53-825a726c6a1c/snap-feline-probnp-test-accuracy.pdf)

- IDEXX Laboratories. (2014). Suggested guidelines for suspected feline cardiac diseases. Acedido a 23 de Setembro de 2018, disponível em: <https://www.idexx.eu/globalassets/documents/steps/feline-cardiac-protocols-suggested-guidelines.pdf>
- IDEXX Laboratories. (2010). Cardiopet™ proBNP - a revolutionary new test that will change the way you approach cardiac disease in your practise. Acedido a 23 de Setembro de 2018, disponível em: [http://www.idexx.co.uk/pdf/en\\_gb/smallanimal/reference-laboratories/cardiopet-probnp.pdf](http://www.idexx.co.uk/pdf/en_gb/smallanimal/reference-laboratories/cardiopet-probnp.pdf)
- IDEXX Laboratories. (2013). Interpretive criteria for the canine Cardiopet® proBNP Test. Acedido a 23 de Setembro de 2018, disponível em: [https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer\\_public/26/89/26893bee-e598-479f-ba85-b0084b2ff542/cardiopet-interpretive-criteria-canine.pdf](https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer_public/26/89/26893bee-e598-479f-ba85-b0084b2ff542/cardiopet-interpretive-criteria-canine.pdf)
- Inoue, K., Sakamoto, T., Yuge, S., Iwatani, H., Yamagami, S., Tsutsumi, M., ... Takei, Y. (2005). Structural and functional evolution of three cardiac natriuretic peptides. *Molecular Biology and Evolution*, 22(12), 2428–2434.
- Kawakoshi, A., Hyodo, S., Inoue, K., Kobayashi, Y., & Takei, Y. (2004). Four natriuretic peptides (ANP, BNP, VNP and CNP) coexist in the sturgeon: identification of BNP in fish lineage. *Journal of Molecular Endocrinology*, 32(2), 547–555.
- Kittleson, M. D. (2011). Feline hypertrophic cardiomyopathy: state of the art, part 1 and 2. Acedido a 2 de Outubro de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=5438383&pid=11338&>
- Kittleson, M. D. (2014). Controversies in feline cardiomyopathy: feline left ventricular noncompaction - real or fantasy? Acedido a 25 de Setembro de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=6293143&pid=11398&>
- Kittleson, M. D., & Kienle, R. (1998). *Small animal cardiovascular medicine* (2ª Ed.). Mosby Inc.
- Kittleson, M. D., & Lake-Bakaar, G. (2017). Cardiomyopathy, Hypertrophic. Acedido a 25 de Setembro de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=664>
- Kittleson, M. D., & Rishniw, M. (2017). NT-proBNP Assay. Acedido a 24 de Setembro de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=3859730&pid=11200&#Top>
- Labr, S. M., Connolly, D. J., Elliott, J., & Syme, H. M. (2009). Plasma concentrations of natriuretic peptides in normal cats and normotensive and hypertensive cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Cardiology*, 11(SUPPL. 1), S71–S79.
- Liang, F., Webb, P., Marimuthu, A., Zhang, S., & Gardner, D. G. (2003). Triiodothyronine increases brain natriuretic peptide (BNP) gene transcription and amplifies endothelin-dependent BNP gene transcription and hypertrophy in neonatal rat ventricular myocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 278(17), 15073–15083.
- Lombard, C. W. (2010). Cardiac Biomarkers, what should the practitioner know and what is coming? [versão eletrónica]. Em *Proceedings of the Southern European Veterinary Conference - SEVC*. Barcelona, Spain.

- Longeri, M., Ferrari, P., Knafelz, P., Mezzelani, A., Marabotti, A., Milanesi, L., ... Porciello, F. (2013). Myosin-binding protein C DNA variants in domestic cats (A31P, A74T, R820W) and their association with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(2), 275–285.
- MacDonald, K. A. (2014). Comparative aspects and clinical assessment of «other» feline cardiomyopathies. Acedido a 21 de Setembro de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=6293153&pid=11398&>
- Machen, M. C., Oyama, M. A., Gordon, S. G., Rush, J. E., Achen, S. E., Stepien, R. L., ... Kellihan, H. B. (2014). Multi-centered investigation of a point-of-care NT-proBNP ELISA assay to detect moderate to severe occult (pre-clinical) feline heart disease in cats referred for cardiac evaluation. *Journal of Veterinary Cardiology*, 16(4), 245–255.
- Martinez-Rumayor, A., Richards, A. M., Burnett, J. C., & Januzzi, J. L. (2008). Biology of the natriuretic peptides. *American Journal of Cardiology*, 101(3).
- Menaut, P., Connolly, D. J., Volk, A., Pace, C., Luis Fuentes, V., Elliott, J., & Syme, H. (2012). Circulating natriuretic peptide concentrations in hyperthyroid cats. *Journal of Small Animal Practice*, 53(12), 673–678.
- Nakamura, R. K., Rishniw, M., King, M. K., & Sammarco, C. D. (2011). Prevalence of echocardiographic evidence of cardiac disease in apparently healthy cats with murmurs. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13(4), 266–271.
- Orvalho, J. (2016). Feline cardiomyopathies. Acedido a 22 de Setembro de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=8249880&pid=19840&>
- Oyama, M. A. (2007). Cardiac blood tests: when, how and why to use them. Em *Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference*. Pennsylvania, Philadelphia.
- Oyama, M. A. (2009). Biochemical Markers of Heart Disease. Em *Proceeding of the SEVC - Southern European Veterinary Conference*. Barcelona, Spain.
- Oyama, M. A., Boswood, A., Connolly, D. J., Ettinger, S. J., Fox, P. R., Gordon, S. G., ... Zannad, F. (2013). Clinical usefulness of an assay for measurement of circulating N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration in dogs and cats with heart disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(1), 71–82.
- Payne, J. R., Borgeat, K., Connolly, D. J., Boswood, A., Dennis, S., Wagner, T., ... Luis Fuentes, V. (2013). Prognostic indicators in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(6), 1427–1436.
- Payne, J. R., Brodbelt, D. C., & Fuentes, V. L. (2015). Cardiomyopathy prevalence in 780 apparently healthy cats in rehoming centres (the CatScan study). *Journal of Veterinary Cardiology*, 17, S244–S257.
- Rothrock, K. (2016). Chronic kidney disease. Acedido a 2 de Outubro de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=1087>
- Rush, J. E. (2016). Feline Cardiomyopathy. Acedido a 24 de Setembro de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=7672008&pid=16700&>

- Sampedrano, C. C., Chetboul, V., Gouni, V., Nicolle, A. P., Pouchelon, J. L., & Tissier, R. (2006). Systolic and diastolic myocardial dysfunction in cats with hypertrophic cardiomyopathy or systemic hypertension. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(5), 1106–1115.
- Schober, K., & Todd, A. (2010). Echocardiographic assessment of left ventricular geometry and the mitral valve apparatus in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology*, 12(1), 1–16.
- Silva, A. C., Muzzi, R. A. L., Oberlender, G., Nogueira, R. B., & Muzzi, L. A. L. (2013). Feline hypertrophic cardiomyopathy: an echocardiographic approach. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 45(1), 1–6.
- Sisson, D., Fox, P. R., & Moise, S. N. (1999). *Textbook of canine and feline cardiology - principles and clinical practice* (2ª Ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Sleeper, M. M., Clifford, C. A., & Laster, L. L. (2001). Cardiac troponin I in the normal dog and cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15(5), 501–503.
- Smother, B., Lehmkühl, L., Adin, D., & Nguyenba, T. (2012). Heart rate and arrhythmia frequency of normal cats compared to cats with hypertrophic cardiomyopathy. Acedido a 23 de Setembro de 2018, disponível em: <https://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=5397301&pid=11356&>
- Solter, P. F. (2007). Clinical biomarkers of cardiac injury and disease [versão eletrônica]. Em *Proceeding of the ACVP/ASVCP: Concurrent Annual Meetings*. Savannah, Georgia.
- Spotnitz, H. M., & Sonnenblick, E. H. (1973). Structural conditions in the hypertrophied and failing heart. *The American Journal of Cardiology*, 32(4), 398–406.
- Terri, D. F. (2008). Cardiac biomarkers: a blood test for heart disease? [versão eletrônica]. Em *Proceeding of the LAVC Latin American Veterinary Conference*. Lima, Peru.
- Thrall, D. E. (2013). *Textbook of veterinary diagnostic radiology* (6ª Ed.). United States of America: Elsevier Saunders.
- Tominaga, Y., Miyagawa, Y., Toda, N., & Takemura, N. (2011). The diagnostic significance of the plasma N-Terminal Pro-B-Type natriuretic peptide concentration in asymptomatic cats with cardiac enlargement. *Journal of Veterinary Medical Science*, 73(8), 971–975.
- van Kimmenade, R. R. J., & Januzzi Jr., J. L. (2009). The evolution of the natriuretic peptides - Current applications in human and animal medicine. *Journal of Veterinary Cardiology*, 11, S9–S21.
- Ware, W. A. (2011). *Cardiovascular disease in small animal medicine* (3ª Ed.). Barcelona: Mason Publishing Ltd.
- Wess, G., Daisenberger, P., Mahling, M., Hirschberger, J., & Hartmann, K. (2011). Utility of measuring plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide in detecting hypertrophic cardiomyopathy and differentiating grades of severity in cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(2), 237–244.
- Yonewaza, L. A., Fernandes da Silveira, V., Machado, L. P., & Kohayagawa, A. (2009). Marcadores cardíacos na medicina veterinária. *Ciência rural*.