

Université de Montréal

Altérations structurales et dynamiques des artères pulmonaires secondaires aux conditions  
respiratoires chez le chat domestique

*Par*

Rachel St-Arnaud-Massicotte

Département de sciences cliniques

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire  
en vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences* (M. Sc.)  
en sciences vétérinaires, option sciences cliniques

Avril 2022

© Rachel St-Arnaud-Massicotte, 2022

Université de Montréal

Département de sciences cliniques, Faculté de médecine vétérinaire

---

*Ce mémoire intitulé*

**Altérations structurales et dynamiques des artères pulmonaires secondaires aux conditions respiratoires chez le chat domestique**

*Présenté par*

**Rachel St-Arnaud-Massicotte**

*A été évalué par un jury composé des personnes suivantes*

**Gilles Fecteau**

Président-rapporteur

**Isabelle Masseur**

Directrice de recherche

**Bérénice Conversy**

Codirectrice

**Pierre Hélie**

Membre du jury

## Résumé

Chez l'humain et le chien, certaines atteintes respiratoires peuvent mener à une augmentation de la pression artérielle pulmonaire (PAP) et à un remodelage des artères pulmonaires. Chez le chat domestique, de telles conséquences n'ont que rarement été rapportées. Dans ce mémoire de maîtrise, nous avons étudié l'impact des atteintes respiratoires sur l'hémodynamie et la structure des vaisseaux artériels pulmonaires chez *felis catus domestica* à l'aide de deux approches méthodologiques. La première s'intéressait au temps d'intervalles systoliques (STIs) mesurés à l'échocardiographie et leur corrélation avec l'estimation de la PAP. Dix-sept autres paramètres échocardiographiques chez 10 chats atteints de maladies respiratoires chroniques ont été comparés à ceux de 16 chats sains. Aucune différence significative n'a été démontrée entre les deux groupes pour l'ensemble des paramètres. Les STIs n'étaient pas corrélés à l'estimation de la PAP, limitant leur potentiel prédictif d'hypertension pulmonaire chez le chat. La deuxième approche visait à déterminer histologiquement l'incidence des désordres bronchiolaires (BD) sur le remodelage artériel pulmonaire, à l'aide de tissus pulmonaires provenant de 13 chats atteints à ceux de 13 chats témoins. La proportion de la paroi artérielle occupée par l'adventice était significativement plus élevée chez les chats BD que celle du groupe contrôle, chez qui l'intima et la média était significativement plus proéminente chez les artères de petit et moyen calibre, respectivement. Cet effet opposé s'est soldé par une épaisseur pariétale totale comparable entre les deux groupes. D'autres études seront nécessaires pour comprendre les mécanismes physiologiques sous-jacents aux changements histologiques observés lors de BD.

**Mots clés:** désordres bronchiolaires, ratio paroi: lumière vasculaire, remodelage vasculaire pulmonaire, aire de la paroi en coupe transversale des vaisseaux pulmonaires, tuniques artérielles, hypertension pulmonaire, temps d'intervalles systoliques, échocardiographie.

## Abstract

In humans and dogs, respiratory disorders can lead to increased pulmonary arterial pressure (PAP) and a remodeling of the pulmonary arteries. In domestic cats, such consequences have rarely been reported. In this master's thesis, we studied the impact of respiratory diseases on pulmonary hemodynamics and on pulmonary arterial morphometry in *felis catus domestica* using two methodological approaches. Our first study focused on systolic time intervals (STIs) and their correlation with estimated PAP, upon which 17 other echocardiographic parameters were compared between 10 cats with chronic respiratory diseases and 16 healthy cats. No significant differences were observed between the two groups for any of the parameters that were measured. STIs did not correlate with estimated PAP, limiting their predictive potential of pulmonary hypertension in cats. The second study's aim was to determine the histological impact of bronchiolar disorders (BD) on the remodeling of pulmonary arteries using pulmonary tissues from 13 affected cats compared to those of 13 control cats. The proportion of the arterial wall occupied by the adventitia was significantly higher in cats with BD than that of the control group, of which the intima and media were significantly more prominent in small and medium caliber arteries, respectively. This opposite effect resulted in a comparably similar wall thickness between the two groups. Further studies will be needed to understand the physiological mechanisms underlying the histological changes observed in cats with BD.

**Key words:** bronchiolar disorders, vascular wall-to-lumen ratio, pulmonary vascular remodeling, cross sectional area of pulmonary vessels, arterial tunics, pulmonary hypertension, systolic time intervals, echocardiography

# Table des matières

Résumé .....	3
Abstract .....	4
Table des matières .....	5
Liste des tableaux .....	10
Liste des figures .....	11
Liste des sigles et abréviations .....	13
Remerciements .....	20
Introduction .....	22
Chapitre 1 – Recension des écrits .....	23
1 – Physiologie de la circulation pulmonaire .....	23
1.1 Ordres des artères pulmonaires .....	23
1.2 Hémodynamie de la circulation pulmonaire .....	24
1.2.1 Loi de Poiseuille .....	24
1.2.2 Flot sanguin .....	27
1.2.2.1 Oreillette droite .....	28
1.2.2.2 Ventricule droit .....	29
1.2.2.3 Tronc pulmonaire .....	30
1.2.2.4 Paramètres du cœur gauche .....	34
1.3 Résistance vasculaire pulmonaire et compliance des vaisseaux .....	34
1.4 Homéostasie de la pression sanguine pulmonaire .....	36
2 – Histologie normale des artères et veines pulmonaires .....	39
2.1 Tuniques .....	39
2.1.1 Intima .....	40
2.1.2 Média .....	40
2.1.3 Adventice .....	40
2.2 Artères et artérioles pulmonaires .....	41

2.3	Capillaires .....	45
2.4	Veines et veinules pulmonaires .....	46
3	Hypertension pulmonaire .....	49
3.1	Définition .....	49
3.1.1	Hypertension pulmonaire artérielle .....	49
3.1.2	Hypertension causée par des atteintes du cœur gauche .....	49
3.1.3	Hypertension causée par les atteintes pulmonaires et/ou l'hypoxie .....	49
3.1.4	Hypertension pulmonaire thrombotique chronique .....	50
3.1.5	Causes multifactorielles .....	50
3.2	Diagnostic et mesure étalon .....	50
3.3	Conséquences hémodynamiques du PH groupe 3 .....	51
3.4	Conséquences histologiques vasculaires pulmonaires .....	54
3.4.1	Remodelage vasculaire pulmonaire .....	56
3.4.1.1	Définition .....	56
3.4.1.2	Lésions de l'intima .....	57
3.4.1.3	Lésions de la média .....	60
3.4.1.4	Lésions de l'adventice .....	60
3.5	Hypertension pulmonaire et remodelage chez le chat .....	61
4	Choix du modèle : Désordres bronchiolaires .....	63
5	Précisions méthodologiques .....	65
5.1	Colorations d'intérêts du projet .....	65
5.1.1	Verhoeff-van Gieson (VVG) .....	65
5.1.2	Trichrome de Masson (TdM) .....	66
5.2	Mesures histologiques .....	68
5.2.1	Calibre des artères .....	68

5.2.2	Diamètre moyen de la lumière (MLD) .....	68
5.2.3	Épaisseur moyenne de la paroi (MWT).....	69
5.2.4	Ratio paroi : lumière (RWL) .....	69
5.2.5	Aire de la section transverse .....	69
	Objectifs .....	71
	Chapitre 2 – Exposé et analyses des résultats : Echocardiographic systolic time intervals in 10 cats with spontaneous respiratory diseases.....	73
	1 – Énoncé des rôles des auteurs .....	73
	2 – Abstract .....	73
	3 – Introduction .....	74
	4 – Materials and methods .....	75
	4.1 Experimental group.....	75
	4.2 Control group .....	75
	4.3 Echocardiographic evaluation and measurements .....	76
	4.3.1 Right ventricle .....	76
	4.3.2 Pulmonary trunk .....	76
	4.3.3 Right atrium and cranial vena cava .....	77
	4.3.4 Other parameters.....	77
	4.4 Statistical analysis.....	78
	5 – Results .....	78
	5.1 Demographics and clinical findings.....	78
	5.2 Radiographic Diagnoses .....	81
	5.3 Echocardiography .....	81
	6 – Discussion .....	86
	7 – Limitations .....	87
	8. – Conclusion.....	88

9 – Acknowledgment .....	88
10 – Literature cited .....	88
Chapitre 3 – Exposé et analyses des résultats : Pulmonary arterial remodeling in cats with bronchiolar disorders distinct from unremarkable feline healthy lungs.....	91
1 – Énoncé des rôles des auteurs.....	91
2 – Abstract .....	91
3 – Introduction.....	92
4 – Materials and methods .....	93
4.1 Control group.....	93
4.2 Bronchiolar disorder group.....	94
4.3 Lung tissue digitalisation .....	94
4.4 Vessel selection and quality control .....	95
4.5 Determination of arterial caliber.....	97
4.6 Determination of the wall-to-lumen ratio .....	97
4.7 Wall cross-sectional area (CSA).....	98
4.8 Tunic fractional cross-sectional area .....	99
4.9 Statistical analysis.....	99
5 – Results.....	100
5.1 Vessel selection based on circularity and narrowing index .....	101
5.2 Pulmonary artery caliber.....	102
5.3 Wall-to-lumen ratio.....	103
5.4 Wall cross-sectional area .....	105
5.5 Percent fractional tunic area.....	105
5.6 Influence of age, body weight and sex on measurements.....	109
6 – Discussion .....	109
7. Limitations .....	111



8. – Conclusion.....	112
9. – Acknowledgment .....	112
10. – Literature cited .....	112
Discussion générale.....	116
1. – Retour sur les résultats .....	116
1.1 Premier volet: <i>Echocardiographic systolic time intervals in cats with spontaneous respiratory diseases: a pilot study</i> .....	116
1.2 Second volet: <i>Pulmonary arterial remodeling in cats with bronchiolar disorders</i> ...	118
1.3 Lien entre les projets .....	121
2. – Limites.....	123
Conclusion.....	125
Références .....	127

# Liste des tableaux

## Recension des écrits :

**Tableau 1** – Repères histologiques utilisés pour la délimitation des différentes tuniques des artères pulmonaires. ....70

## **Chapitre 2: Exposé et analyses des résultats : *Echocardiographic systolic time intervals in 10 cats with spontaneous respiratory diseases***

Table 1 – Demographic data for experimental and control cats included in the study. ....79

Table 2 –History, clinical findings, and differential diagnostics of included experimental cats. ...80

Table 3 – Individual echocardiographic parameter values of control and experimental cats obtained for the assessment of pulmonary circulation hemodynamics.....82

Table 4 – Echocardiographic parameters (median and IQR) obtained in normal cats and cats with chronic pulmonary disease following ACVIM -described anatomical sites (Reinero et al., 2020).  
.....84

## **Chapitre 3: Exposé et analyses des résultats : *Pulmonary arterial remodeling in cats with bronchiolar disorders distinct from unremarkable feline healthy lungs***

Table 1– Scores attributed to all cats included in the study according to their wall-to-lumen ratio for small, medium, and large caliber pulmonary arteries (Hamilton, 1966a; Rogers et al., 1971).  
.....98

Table 2 – Histomorphometric evaluation of pulmonary arteries in control and bronchiolar disorders cats according to vessel caliber. ....104

Table 3 – Fractional tunic area (%) of pulmonary artery walls from control and bronchiolar disorders cats according to vessel caliber. ....106

# Liste des figures

## Recension des écrits :

Figure 1 – Schéma représentant les ordres 12 à 9 des artères pulmonaires félines.....	24
Figure 2 – Formule simplifiée de Poiseuille. ....	25
Figure 3 – Schéma des structures anatomiques cardiaques parcourues par le flot sanguin. ....	28
Figure 4 – Formule simplifiée de Bernoulli .....	29
Figure 5 – Schéma des différents types de profil du flot sanguin pulmonaire.....	31
Figure 6 – Exemple de mesure des temps d’intervalles systoliques de la valve pulmonaire chez le chat à l’aide d’une sonde Doppler spectrale guidée au flux de couleur. ....	32
Figure 7 – Exemple de mesure de l’intégrale de temps de la vélocité du flot pulmonaire dans le tronc pulmonaire (PAVTI) mesuré au niveau de la valve pulmonaire chez le chat à l’aide d’une sonde Doppler spectrale guidée au flux de couleur.....	33
Figure 8 – Schéma des différentes forces influençant la compliançe des vaisseaux pulmonaires.	36
Figure 9 – Schéma de l’équilibre des pressions dans les capillaires de la circulation pulmonaire. ....	38
Figure 10 – Schéma de la structure des tuniques chez les artères et veines pulmonaires. ....	39
Figure 11 – Artère élastique large. ....	42
Figure 12 – Artère musculaire moyenne. ....	43
Figure 13 – Artérioles. ....	44
Figure 14 – Lit capillaire pulmonaire.....	45
Figure 15 – Veinules pulmonaires. ....	46
Figure 16 – Veine pulmonaire moyenne. ....	47
Figure 17 – Veine pulmonaire large.....	48
Figure 18 – Schéma du flot sanguin normal et lors d’hypertension pulmonaire. ....	52
Figure 19 – Schéma décrivant l’impact d’une élévation de la PAP > 25 mm Hg dans les capillaires. ....	53
Figure 20 – Exemple de coloration au Verhoeff-van Gieson d’une artère musculaire moyenne d’un chat atteint de désordres bronchiolaires. ....	66
Figure 21 – Exemple de coloration au trichrome de Masson d’une artère musculaire moyenne d’un chat atteint de désordres bronchiolaires. ....	67

### **Chapitre 3: Exposé et analyses des résultats: *Pulmonary arterial remodeling in cats with bronchiolar disorders distinct from unremarkable feline healthy lungs***

Figure 1 – Example of the method performed to obtain the values of a) GLA, ED and b) cross-sectional area in Image scope on a medium caliber muscular pulmonary artery of a cat with bronchiolar disorder. ....	96
.....	101
Figure 2 – Distribution of GLA/ED ratio and narrowing index for all selected pulmonary arteries, irrespective of caliber, for the control and bronchiolar disorders cats group.....	101
Figure 3 – Photomicrographs of large elastic arteries from control cats having obtained GLA/ED values greater than 3.....	102
Figure 4 – Distribution frequency of wall to lumen ratio scores (0-5) for small, medium, and large caliber pulmonary arteries from control and bronchiolar disorder groups.....	103
Figure 5 – Examples of two small pulmonary arteries with identical wall-to-lumen scores but different % tunic fractional area.....	107
Figure 6 – Examples of two different pattern of remodeling in medium pulmonary arteries from control and bronchiolar disorders cats. ....	108

## Liste des sigles et abréviations

3D : trois dimensions (*three dimension*)

$\alpha$ -SMA : alpha actine des muscles lisses (*alpha smooth muscle actin*)

$\mu\text{m}$  : micromètre

$\eta$ : Viscosité

$\Delta P$  : différence de pression

ACVIM: Collège américain de médecine interne vétérinaire (*American College of Veterinary Internal Medicine*)

ACVP : Collège américain des vétérinaires pathologistes (*American College of Veterinary Pathology*)

ALT : Alanine aminotransférase

ALP : Phosphatase alcaline (*alkaline phosphatase*)

AT : temps d'accélération (*acceleration time*)

AT : ET : index du temps d'accélération (*acceleration time index*)

AoD : Diamètre de l'aorte (*diameter of the aorta*)

BCS : Score de condition corporelle (*body condition score*)

BD : désordres bronchiolaires (*bronchiolar disorders*)

Bpm: battements par minute (*beats per minute*)

C : compliance

CBC : Formule leucocytaire complète (*complete blood count*)

CDVUM: Centre de diagnostic vétérinaire de l'Université de Montréal

CHUV: Centre hospitalier universitaire vétérinaire

Cm : centimètre

CmH<sub>2</sub>O : centimètre d'eau

Co VCCr : Collapsibilité de la veine cave crâniale (*cranial vena cava collapsibility*)

CO: débit cardiaque (*cardiac output*)

CO<sub>2</sub> : dioxyde de carbone

COPD : Maladie obstructive chronique du poumon (*chronic obstructive pulmonary disease*)

Cp : centipoise

CSA : Aire de la section transverse (*cross sectional area*)

CT scan: Tomodensitométrie (*computed tomography*)

ECG : électrocardiogramme (*electrocardiogram*)

ED : diamètre externe (*external diameter*)

EEL : Couche élastique externe (*external elastic lamina*)

ET : temps d'éjection (*ejection time*)

F : femelle (*female*)

FA : aire fractionnaire (*fractionnal area*)

FR%RV : Pourcentage de rétrécissement fractionnaire du ventricule droit (*Shortening fraction percentage of the right ventricle*)

GLA : Profil luminal le plus grand (*great longitudinal axis*)

GLA/ED : index de circularité (*circularity index*)

HE : Hématoxyline et éosine

HR: fréquence cardiaque (*heart rate*)

IEL : Couche élastique interne (*internal elastic lamina*)

IPF : Fibrose idiopathique du poumon (*idiopathic pulmonary fibrosis*)

IQR : écart interquartile (*interquartile range*)

Kg : kilogramme

L: litre

LA : Ao : ratio entre le diamètre de l'oreillette gauche et le diamètre de l'aorte (*left atrial diameter to aortic diameter ratio*)

LAD: Lobe accessoire droit (*right accessory lobe*)

LCdD : Lobe caudal droit (*right caudal lobe*)

LCdG : Lobe caudal gauche (*left caudal lobe*)

LCdCrG : Segment caudal du lobe crânial gauche (*caudal part of the left cranial lobe*)

LCrCrG : Segment crânial du lobe crânial gauche (*cranial part of the left cranial lobe*)

LCrD : Lobe crânial droit (*right cranial lobe*)

LED: Portion du diamètre externe occupée par la lumière (*luminal portion of the external diameter*)

LGLA: Portion du plus grand profil luminal occupée par la lumière (*luminal portion of the great longitudinal axis*)

LMD: Lobe moyen droit (*right middle lobe*)

M: mâle (*male*)

Mi: minute

ml: millilitre

MLD : diamètre moyen de la lumière (*mean luminal diameter*)

Mm : millimètre

Mm Hg : millimètre de mercure (*millimeter of mercury*)

Mmol/L : millimoles par litre

M/s : mètres par seconde

Ms : milliseconde (*millisecond*)

MTW : épaisseur moyenne de la paroi (*mean wall thickness*)

N : nombre

NI : index de collapse (*narrowing index*)

NO : oxyde nitrique (*nitric oxide*)

O<sub>2</sub> : oxygène

OMS : Organisation mondiale de la santé

PH : hypertension pulmonaire (*pulmonary hypertension*)

PAP : pression artérielle pulmonaire (*pulmonary arterial pressure*)

PAR : remodelage artériel pulmonaire (*pulmonary arterial remodeling*)

PAVTI : intégrale de temps de la vitesse des artères pulmonaires (*Pulmonary artery velocity time integral*)

PDA : patent ductus arteriosus

PR : pic de vitesse du jet de régurgitation de la valve pulmonaire (*pulmonary regurgitation peak velocity jet*)

PR max : valeur maximale du pic de vitesse du jet de régurgitation de la valve pulmonaire (*maximum pulmonary regurgitation peak velocity jet*)

PRN : au besoin (*as needed*)

Pu profile : profile pulmonaire (*pulmonary profile*)

PTD : diamètre du tronc pulmonaire (*pulmonary trunk diameter*)

PVR : résistance vasculaire pulmonaire (*pulmonary vascular resistance*)

Q : flot sanguin

R : résistance

R<sup>4</sup> : rayon

RA: oreillette droite (*right atrium*)



RA<sub>d</sub> max : diamètre maximum de l'oreillette droite (*right atrium maximum diameter*)

RAP: gradient de pression entre le ventricule droit et l'oreillette droite (*pressure gradient between the right ventricle and atrium*)

RV: ventricule droit (*right ventricle*)

RV<sub>dd</sub>: diamètre du ventricule droit en diastole (*right ventricle diameter in diastole*)

RV<sub>ds</sub>: diamètre du ventricule droit en systole (*right ventricle diameter in systole*)

RVP: remodelage vasculaire pulmonaire (*pulmonary vascular remodeling*)

RWL: ratio paroi : lumière (*wall-to-lumen ratio*)

SE : erreur type (*standard error of the mean*)

SD: écart-type (*standard deviation*)

SPAP : pression artérielle pulmonaire systolique (*systolic pulmonary arterial pressure*)

SPF : exempt de pathogènes spécifiques (*specific pathogen-free*)

STIs: temps d'intervalles systoliques (*systolic time intervals*)

SUB : Appareil de contournement urétéral sous-cutané (*Subcutaneous Ureteral Bypass Device*)

SV : volume d'éjection ventriculaire systolique

TA : adventice (*tunica adventitia*)

TdM : Trichrome de Masson

TI : intima (*tunica intima*)

TM : média (*tunica media*)

TR : pic de vitesse du jet de régurgitation tricuspidiennne (*tricuspid regurgitation peak velocity jet*)

TR max : valeur maximale du pic de vitesse du jet de régurgitation tricuspidiennne (*maximum tricuspid regurgitation peak velocity jet*)

U/ L : unités par litre

VA : Pic de vélocité du jet de la valve aortique (*aortic peak velocity jet*)

VA max : valeur maximale du pic de vélocité du jet de la valve aortique (*maximum aortic peak velocity jet*)

VCCr max : Diamètre maximum de la veine cave crâniale (*cranial vena cava maximum diameter*)

VCCr min : Diamètre minimum de la veine cave crâniale (*cranial vena cava minimum diameter*)

VVG: Verhoeff-van Gieson

Y: année (year)

*À Mylène, éternelle voyageuse.*

## Remerciements

J'aimerais d'abord remercier ma directrice, Dre Isabelle Masseau, de m'avoir permis d'entreprendre un projet dans le domaine des sciences vétérinaires, domaine qui me tient à cœur depuis toujours. Merci d'avoir cru en mes compétences et de m'avoir fait confiance pour entreprendre un projet d'une si grande envergure. Ta disponibilité, ton soutien et ta rigueur auront certainement fait de moi la scientifique que je suis aujourd'hui. Je suis très reconnaissante d'avoir eu la chance de t'avoir pour guide tout au long de mon parcours et je suis certaine que tes enseignements me suivront tout au long de ma carrière.

J'aimerais également à remercier ma co-directrice, Dre Bérénice Conversy, de m'avoir guidé tout au long de la portion clinique de ce projet. Merci pour le temps que tu m'as offert pour me conseiller et me soutenir tout au long du projet. Ton enthousiasme et ta passion contagieuse pour la médecine animale ont certainement eu un impact positif sur mon cheminement et j'ai adoré pouvoir travailler avec toi.

Merci aussi au Dr Jean-Pierre Lavoie de m'avoir accueilli dans son laboratoire et permis d'enrichir mon expérience grâce aux rencontres avec son équipe et l'utilisation de son équipement. Merci également pour tes conseils judicieux et ton intérêt dans mon projet de recherche. Ton implication a eu un impact important dans mon cheminement et j'en suis très reconnaissante.

Je tiens également à remercier Dr Kurt Williams et son équipe, qui nous a fourni les tissus expérimentaux nécessaires à la seconde partie de ce projet et participé à la préparation des tissus contrôle. Your insight was greatly appreciated and made a huge difference in my understanding of pulmonary histology, thank you! Merci également à Dre Carol Reiner, pour sa participation dans la rédaction des articles et ses conseils concernant la rédaction. Even if we did not have the chance to meet, it was a pleasure for me to participate in rounds and learn from your expertise.

Un merci spécial au Dr Pierre Hélie, qui m'a été d'une aide sans égal dans l'élaboration et la sélection des cas du groupe contrôle pour la seconde partie de ce projet. Un énorme merci pour ton temps et tes conseils. Je suis convaincu que sans ton expertise et ton implication, ce projet n'aurait pas été le même. Je suis très reconnaissante pour toute l'aide que tu m'as apportée.

Merci également à Guy Beauchamp, dont les compétences en statistiques m'ont grandement éclairé et aidé tout au long de l'élaboration des protocoles jusqu'à l'analyse de mes résultats. Votre expertise et vos conseils ont certainement fait de moi une meilleure scientifique.

Je tiens également à remercier les équipes du CHUV d'imagerie et de cardiologie pour leur aide et leur patience avec mes patients félins. Votre travail impeccable est grandement apprécié et m'aura permis de mener à bien ce projet. Merci aussi à toute l'équipe du Centre de diagnostic vétérinaire de l'Université de Montréal pour leur participation dans le traitement des tissus histologiques. Votre bonne humeur, votre service efficace et votre expertise ont certainement fait une différence positive dans la réalisation de mon projet.

J'aimerais également remercier le fond des animaux de compagnie pour avoir soutenu financièrement ce projet, ainsi qu'à l'INRS et l'Université de Montréal (la faculté de médecine vétérinaire et la faculté des études supérieures) pour leur généreux soutien financier qui m'aura permis de me concentrer sur mes études.

Merci à Dre Mylène Larochelle, mon amie et mentore, sans qui ce mémoire n'aurais vraisemblablement jamais vu le jour. Bien que tu ne le lises jamais, il y a un peu de toi dans ce manuscrit. Ta passion pour la médecine vétérinaire, ta joie de vivre et ta confiance sincère en mes capacités m'auront permis de repousser mes limites et de réaliser ce projet. Mention spéciale à mon amie Émilie, pour ton intérêt, ta passion contagieuse pour la science et ton positivisme. Toutes ces qualités ont nourri ma motivation et ton soutien inconditionnel m'a permis de mener à bien ce projet. Merci aussi à Vanessa, qui a été un guide tout au long de ce projet. Merci pour tout le temps que tu as passé à me rassurer et me soutenir dans toutes les étapes de cet énorme projet. Votre présence à toutes aura certainement fait une différence majeure sur ma réussite et je suis extrêmement reconnaissante de vous avoir comme amies. Un petit clin d'œil à mon copain Sébastien, qui m'a aidé avec les termes en anglais et dont la patience n'a pas de limite ! Merci de m'avoir soutenue et nourri durant la rédaction de ce mémoire.

Finalement, j'aimerais remercier mes parents pour leur soutien infini et leurs encouragements tout au long de mon projet. Cet accomplissement n'aurait pas été possible sans votre amour et votre support inestimable.

Merci à tous et à toutes !

## Introduction

Les poumons, organes essentiels, accomplissent de nombreuses tâches en plus d’approvisionner le sang en oxygène. Ils participent au contrôle du pH sanguin, à la régulation de la pression sanguine systémique et offrent une protection contre certaines infections via des cellules spécialisées du système immunitaire (Sherwood, 2006). Ces rôles reposent sur une circulation pulmonaire saine.

La proximité entre les artères pulmonaires et les voies respiratoires inférieures présentes au niveau du poumon (c.-à-d. bronches, bronchioles) est susceptible de porter atteinte à leur intégrité lors de conditions respiratoires pulmonaires. En effet, une atteinte importante des structures pulmonaires peut mener à une élévation de la résistance vasculaire pulmonaire, se répercutant sur la pression sanguine dans la circulation pulmonaire. En exemple, citons la maladie interstitielle fibrotique des poumons, une condition induisant le remodelage des voies respiratoires inférieures, pouvant mener à des changements hémodynamiques tels que l’hypertension pulmonaire chez le chien (Schober and Baade, 2006).

Chez le chat domestique (*Felis catus domestica*), la caractérisation des changements structuraux des vaisseaux n’a que très peu été explorée dans un contexte de maladies respiratoires non parasitaires, et ce, malgré une incidence d’atteintes respiratoires pulmonaires affectant un peu plus de 1% de la population féline (Padrid, 2009). Ce manque de données limite notre capacité à en mesurer la portée sur le pronostic. Ce mémoire s’intéresse à l’impact des maladies respiratoires sur l’hémodynamie pulmonaire et la structure des artères pulmonaires. Cet ouvrage tentera de vérifier l’hypothèse selon laquelle les chats atteints de maladies respiratoires pulmonaires présentent des changements artériels hémodynamiques et structuraux significativement plus importants que les chats normaux.

# Chapitre 1 – Recension des écrits

## 1 – Physiologie de la circulation pulmonaire

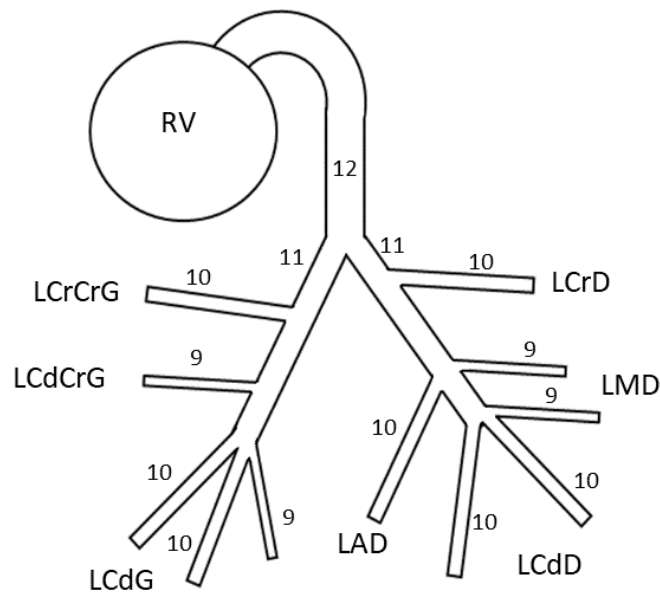
La circulation pulmonaire se distingue de la circulation systémique par son rôle d'oxygénation du sang. En effet, le lit capillaire pulmonaire développé occasionne une diminution de la résistance vasculaire ainsi qu'une augmentation importante du débit sanguin permettant ainsi une oxygénation optimale.

La direction qu'emprunte le sang dans les différents vaisseaux pulmonaires est également propre à la circulation pulmonaire. La circulation systémique transporte du sang oxygéné des artères vers les capillaires puis retourne le sang désoxygéné par les veines. Le sang éjecté du ventricule droit est désoxygéné, acheminé par les artères et artérioles pulmonaires vers le lieu des échanges gazeux, le lit capillaire. Le sang oxygéné est ensuite retourné par les veinules puis les veines pulmonaires jusqu'à l'oreillette gauche du cœur pour être distribué aux cellules de l'organisme via la circulation systémique (Sherwood, 2006).

### 1.1 Ordres des artères pulmonaires

La disposition anatomique des artères pulmonaires dans la cavité thoracique suit étroitement celle de l'arbre bronchique (Pasquini, 2003; Sherwood, 2006). Le système de Strahler, décrit chez plusieurs espèces, dont le chat (*Felis catus domestica*), utilise une classification basée sur des ordres pour faciliter la description précise et l'évaluation du diamètre de la lumière des différentes artères pulmonaires (Yen et al., 1984). L'arbre artériel pulmonaire du chat domestique se divise en 12 ordres d'artères, l'ordre 12 représentant le tronc pulmonaire, tandis que l'ordre 1 représente les artérioles, situées à l'entrée du lit capillaire pulmonaire (Figure 1). Ces données ne sont disponibles que pour les lobes pulmonaires droits. Chez l'humain, on retrouve 17 ordres de vaisseaux. Cette différence pourrait s'expliquer simplement par la différence de taille entre les deux espèces. Les échanges gazeux optimaux sont favorisés par un contrôle précis du débit et de la pression induite par le déplacement du sang dans les vaisseaux. La fonction primaire des poumons, soit

l'oxygénation du sang, est tributaire de la relation entre le flot sanguin (débit) et la résistance vasculaire pulmonaire (Aoki et al., 2012; Zhuang et al., 1983).



**Figure 1** – Schéma représentant les ordres 12 à 9 des artères pulmonaires félines.

*Représentation de l'embranchement des artères pulmonaires félines d'ordres 12 à 9 basé sur les travaux de (Yen et al., 1984). Le chiffre 12 représentant le tronc pulmonaire, 11 les artères pulmonaires gauche et droite puis 10 et 9, les artères pulmonaires lobaires. RV : Ventricule droit. LCrCrG : Portion crâniale du lobe crânial gauche. LCdCrG : Portion caudale du lobe crânial gauche. LCdG : Lobe caudal gauche. LCrD : Lobe crânial droit. LMD : Lobe moyen droit. LCdD : Lobe caudal droit. LAD : Lobe accessoire droit.*

## 1.2 Hémodynamie de la circulation pulmonaire

### 1.2.1 Loi de Poiseuille

La loi de Poiseuille reflète les variables affectant la pression qu'exerce un liquide sur une paroi cylindrique (Sherwood, 2006). Elle permet une compréhension rapide des variables pouvant engendrer des changements dans la perfusion, mais aussi comment l'organisme peut s'adapter à ceux-ci (0



$$\Delta P = \frac{8\eta l Q}{\pi r^4}$$

**Figure 2** – Formule simplifiée de Poiseuille.

*Formule permettant le calcul de la pression sanguine dans une artère donnée (Sherwood, 2006).  $\Delta P$  : Différence de pression.  $\eta$  : Viscosité.  $Q$  : Flot sanguin.  $r$  : Rayon.  $l$  : Longueur.*

Cette équation peut s'appliquer à chaque ordre de vaisseaux pulmonaires afin de déterminer l'influence des variables sur la pression artérielle pulmonaire (PAP). La pression veineuse pulmonaire peut également être mesurée à partir de cette équation, cependant elle est de moins grand intérêt, car très similaire à la pression de l'oreillette gauche (Zhuang et al., 1983).

Les variables prises en compte par l'équation sont la viscosité du sang ( $\eta$ ), la longueur du vaisseau ( $l$ ), le flot sanguin ( $Q$ ) et le rayon ( $r^4$ ) de l'artère concernée.

Chez un chat adulte en bonne santé, la viscosité du sang est relativement stable, soit d'environ 4,0 centipoises (cp), ou un millipascal par seconde, pour les vaisseaux d'ordre 11 à 4, et entre 3,5 cp et 2,5 cp pour les artérioles d'ordre 3 à 1 (Zhuang et al., 1983). Ce facteur généralement constant peut cependant être influencé par le statut d'hydratation, la présence d'une anémie ou encore un long séjour en altitude (Sherwood, 2006; Zhang et al., 2018).

La longueur des vaisseaux étant stable chez l'individu adulte, son impact est négligeable sur les changements de la PAP. Ce facteur est cependant important à prendre en compte si l'on mesure la PAP chez un animal en croissance.

Le débit sanguin, ou flot sanguin ( $Q$ ) dépend du volume sanguin et de la vitesse d'éjection du ventricule droit. Il varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment la lusitropie (temps de remplissage du ventricule droit en diastole), de l'inotropie (force d'éjection ventriculaire droite) et de la chronotropie (fréquence cardiaque). Il est important de noter qu'une augmentation du flot sanguin ( $Q$ ) ne signifie pas nécessairement une augmentation de la pression. En effet, afin de prévenir les variations de la PAP dans la circulation pulmonaire, chaque fois que le flot sanguin

varie, l'organisme peut moduler la résistance (R) des vaisseaux pour maintenir la PAP dans des valeurs usuelles (Sherwood, 2006).

Le rayon de l'artère d'intérêt ( $r^4$ ) est une autre variable déterminant la PAP. Il module la résistance vasculaire ( $R$  ou  $1/r^4$ ) à la force qui lui est imposée par le sang poussant sur ses parois. Il matérialise une restriction à l'écoulement du sang causée par la friction de celui-ci sur ses parois. La résistance vasculaire est indirectement proportionnelle au rayon du vaisseau impliqué. Ainsi, plus un vaisseau se contracte et son rayon diminue, plus la résistance est importante. Cela aura pour effet d'augmenter la pression dans le vaisseau (Sherwood, 2006). Ce phénomène s'explique par le fait qu'un même volume de sang se retrouve en contact avec une plus grande surface de friction. C'est donc la relation entre la morphométrie des vaisseaux et leur capacité à se dilater et à se contracter qui influence majoritairement la régulation de la pression dans la circulation pulmonaire. Le rayon d'un vaisseau varie en fonction du calibre de l'artère, de sa composition tissulaire et de son tonus. Le contrôle de ces facteurs sera discuté à la section 1.4.

De plus, le diamètre vasculaire est directement proportionnel au flot sanguin. En effet, plus le rayon d'un vaisseau augmente, plus le débit sanguin augmente. On en déduit que si la résistance diminue, le débit augmente afin de maintenir une pression stable et optimale pour les échanges. Cette adaptation du débit proviendra du cœur qui augmentera le volume de sang éjecté depuis le ventricule droit (Al-Tinawi et al., 1991; Sherwood, 2006).

La résistance peut être calculée pour un seul vaisseau grâce à la formule de Poiseuille, mais peut aussi être estimée pour l'ensemble de la circulation pulmonaire grâce à l'échocardiographie, qui sera présentée à la section 1.3. On parlera alors de résistance vasculaire pulmonaire (PVR). Cette donnée est d'une importance majeure lors de l'évaluation de l'hémodynamie pulmonaire.

En conclusion, le flot sanguin (Q), soit le débit de sang arrivant dans l'artère d'intérêt, et la résistance (R), déterminée, entre autres, par les dimensions du vaisseau ( $r^4$ ) constituent les variables majeures influençant la pression artérielle pulmonaire. Chez le chat, la pression artérielle pulmonaire systolique moyenne varie entre 20 et 25 mm Hg (Pypendop et al., 2019; Pypendop et al., 2017) et la pression capillaire se situe aux alentours de 10 mm Hg optimisant ainsi les échanges gazeux (Nagasaka et al., 1984).

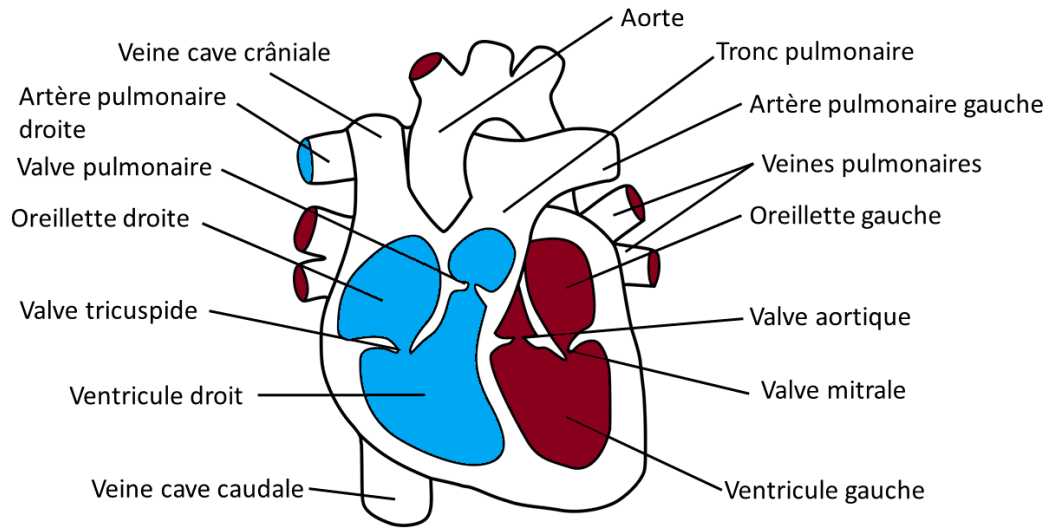
### 1.2.2 Flot sanguin

Le flot sanguin influence la qualité des échanges gazeux et la pression artérielle pulmonaire. Ce dernier découle directement du débit cardiaque provenant du cœur droit et est largement influencé par la performance de ce dernier.

En effet, la circulation du sang dans les différentes cavités cardiaques est assurée par les gradients de pression entre les diverses chambres cardiaques (Figure 3). Par exemple, lors de la diastole auriculaire, les pressions des oreillettes atteignent des valeurs entre 10 mm Hg (gauche) et 0 mm Hg (droite). Ces faibles pressions assurent un écoulement passif du sang depuis les veines caves et pulmonaires dans les oreillettes. Lors de la systole auriculaire, la pression augmente soudainement dans la cavité (environ 6 mm Hg) et les valves tricuspидienne et mitrale s'ouvrent, ce qui entraîne le sang vers les ventricules, où la pression est moindre (diastole ventriculaire). La systole ventriculaire génère ensuite des pressions importantes (entre 22-25 mm Hg pour le ventricule droit et autour de 100 mm Hg pour le ventricule gauche), poussant le sang dans la circulation systémique et pulmonaire (Fitzgerald et al., 2013; Schober et al., 2003).

Afin d'observer et apprécier le cheminement du sang à travers les structures cardiaques, l'option diagnostique la plus répandue, non invasive et peu coûteuse est l'échocardiographie. La mesure des différents paramètres permet, entre autres, l'évaluation du flot sanguin, l'estimation de la PAP et de la résistance vasculaire pulmonaire (PVR).

Chaque structure cardiaque joue un rôle dans la qualité de l'hémodynamie pulmonaire et son analyse. Nous les passerons en revue et détaillerons les mesures d'intérêt à l'échocardiographie.



**Figure 3** – Schéma des structures anatomiques cardiaques parcourues par le flot sanguin.

*Le sang désoxygéné (bleu) arrive de la circulation systémique par la veine cave crâniale et traverse les différentes structures du cœur droit et de la circulation pulmonaire jusqu'aux veines pulmonaires, où le sang oxygéné (rouge) est ensuite relayé à nouveau à la circulation systémique via le cœur gauche et l'aorte (Sherwood, 2006).*

#### 1.2.2.1 Oreillette droite

L'oreillette droite reçoit le sang désoxygéné de la circulation systémique. La veine cave crâniale (VCCr) et la veine cave caudale (VCCd) s'y déversent lors de la diastole. Les diamètres maximum et minimum de ces vaisseaux, de même que le calcul de leur collapsibilité (ex. :  $VCCr_{max} - VCCr_{min} / VCCr_{max} \times 100$ ) permettent d'évaluer l'efficacité du déversement de sang dans l'oreillette droite, mais aussi d'estimer si la pression dans cette dernière est supérieure à la normale. Une collapsibilité réduite laisse croire que la pression y est augmentée (Kircher et al., 1990; Rhinehart et al., 2017).

Le diamètre maximum de l'oreillette droite (RA<sub>d</sub> max) permet d'estimer le volume de sang s'y accumulant entre les systoles, ainsi que le gradient de pression entre celle-ci et le ventricule droit (Opotowsky et al., 2013; Rhinehart et al., 2017). Cette valeur de gradient sera essentielle à l'estimation de la PAP (Figure 4).

Comme l'écoulement du sang se fait de manière passive, l'élévation rapide de la pression du ventricule droit peut induire un refoulement du sang à faible vitesse vers l'oreillette droite à travers

la valve tricuspide fermée. On appelle ce reflux « régurgitation tricuspide (TR) ». Chez le chat, une régurgitation tricuspide est documentée chez près de 65 % des individus en bonne santé (Adin and McCloy, 2005). Toutefois, la présence d'une TR à vitesse élevée représente un indice d'une élévation importante de la pression dans le tronc pulmonaire, indiquant une résistance en aval, empêchant l'écoulement normal du sang.

La vitesse maximale de la TR (TR max) est donc utilisée chez plusieurs espèces pour l'estimation de la PAP à l'échocardiographie grâce à son intégration dans l'équation simplifiée de Bernoulli (Figure 4) (Opotowsky et al., 2013; Rhinehart et al., 2017). À la connaissance de l'auteure, les valeurs de TR max associées à une hypertension pulmonaire chez le chat n'ont pas été établies. On peut cependant déduire, grâce aux valeurs de PAP normale du chat, soit entre 20-25 mm Hg, et la formule simplifiée de Bernoulli, qu'une valeur de TR max située entre 2,0 et 2,2 m/s serait considérée physiologique chez le chat. Au-delà de cette vitesse, une hypertension pulmonaire pourrait être suspectée (section 3). Cependant, chez près d'un tiers des chats, la TR est absente ou impossible à mesurer, ce qui rend limite l'estimation de la PAP chez tous les sujets félins via cette méthode (Adin and McCloy, 2005).

$$PAP = (4 \times TR \max^2) + RAP$$

**Figure 4** – Formule simplifiée de Bernoulli

*Formule permettant le calcul de la valeur estimée de la pression artérielle pulmonaire (PAP), grâce à la mesure échocardiographique du pic maximal de la vitesse du flot de régurgitation tricuspide (TR max) et de la valeur estimée de la pression dans l'oreillette droite (RAP). Cette dernière est estimée subjectivement en fonction de la taille de l'oreillette droite à l'échocardiographie. On lui attribuera une valeur de 5 mm Hg ou 10 mm Hg selon si la taille de l'oreillette est normale ou augmentée (Rhinehart et al., 2017).*

1.2.2.2 Ventricule droit

Lors de la diastole ventriculaire, le sang arrivant de l'oreillette droite s'accumule dans le ventricule droit. Lors de la systole, le ventricule droit se contracte en propulsant le sang dans le tronc pulmonaire à la suite de l'ouverture de la valve pulmonaire. Le diamètre du ventricule lors de la

diastole (RVdd), mais aussi lors de la systole (RVds), permet d'estimer le volume sanguin qui sera éjecté du tronc pulmonaire. La qualité de la contraction ventriculaire droite est notamment évaluée par la fraction de raccourcissement du ventricule droit (FR%RV), à l'aide de la formule suivante (Schober and Baade, 2006). :

$$\text{FR \% RV} = (\text{RVdd} - \text{RVds}) / \text{RVdd} \times 100$$

La quantité de sang éjecté par le ventricule droit (en millilitre) représente le volume d'éjection systolique (SV). Le débit cardiaque (CO), soit la quantité de sang éjectée dans la circulation pulmonaire par unité de temps est calculée ainsi (Rhinehart et al., 2017) :

$$\text{CO} = \text{SV} \times \text{fréquence cardiaque}$$

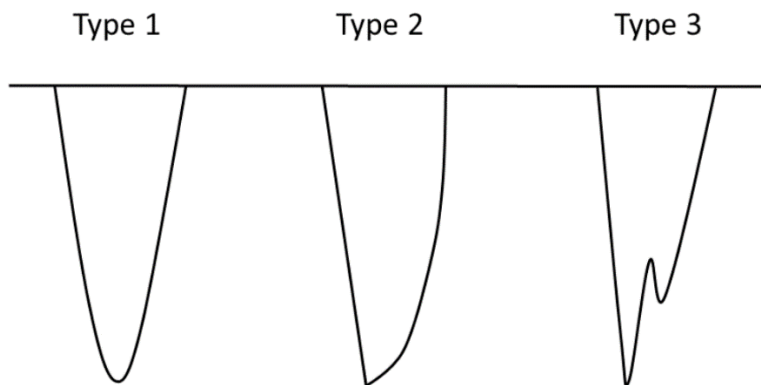
Le débit cardiaque est considéré comme le flot sanguin (Q) dans le calcul de la loi de Poiseuille pour évaluer la PAP dans la circulation pulmonaire.

### 1.2.2.3 *Tronc pulmonaire*

Une fois éjecté par le ventricule droit, le sang atteint le tronc pulmonaire. Le diamètre du tronc pulmonaire (PTD) permet d'évaluer la qualité de la circulation pulmonaire. En effet, il a été documenté chez l'humain et le chien, qu'un PTD augmenté pouvait indiquer une valeur de PAP et de PVR supérieures à la normale (Schneider et al., 2020; Sutherland-Smith et al., 2018).

Au niveau de la valve pulmonaire, il est parfois possible d'observer un retour de sang nommé régurgitation pulmonaire (PR). Cependant, chez le chat sain, les régurgitations pulmonaires sont beaucoup plus rares que les TR (Adin and McCloy, 2005).

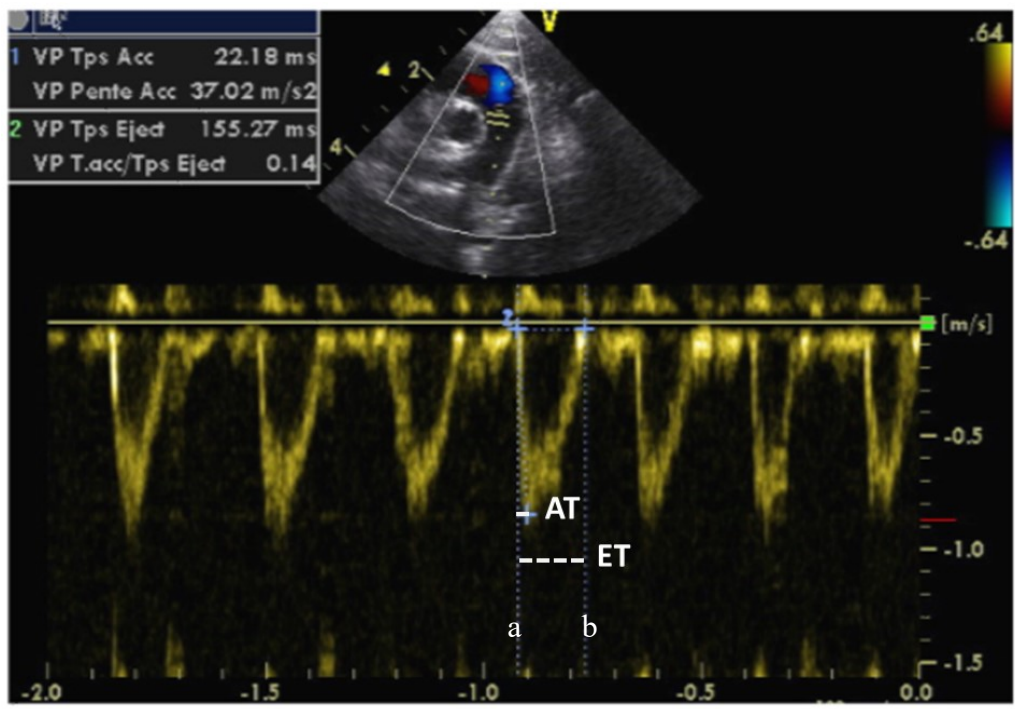
À l'échocardiographie, la fonction Doppler permet l'évaluation qualitative et quantitative du flot pulmonaire traversant la valve pulmonaire. Son évaluation qualitative s'effectue par l'observation du profil pulmonaire. Il en existe 3 types (Figure 5): le type I est le profil normal attendu avec un pic de la vitesse du flot à mi-chemin de la pente d'éjection. Le type II est un profil observé lors d'une augmentation de la vitesse du flot. On dira de celui-ci qu'il est accéléré. Le type III est un profil nettement anormal caractérisé par une entaille dans la forme du flot. Chez le chien, cette forme particulière s'explique entre autres par une résistance vasculaire pulmonaire élevée et une augmentation de la pression artérielle pulmonaire systolique (sPAP) (Uehara, 1993).



**Figure 5** – Schéma des différents types de profil du flot sanguin pulmonaire.

*Le profil du flot pulmonaire s'observe grâce à l'échocardiographie Doppler au niveau de la valve pulmonaire et permet une évaluation qualitative de la pression artérielle pulmonaire. La forme des tracés obtenus permet de classifier le profil en 3 types : Type 1 : Profil normal ; le pic d'éjection est atteint à la moitié du temps d'éjection. Type 2 : Profil accéléré ; caractérisé par l'atteinte du pic avant la moitié du temps d'éjection. Type 3 : Profil entaillé ; résulte d'une augmentation importante de la résistance en aval (Uehara, 1993).*

L'évaluation quantitative du flot sanguin pulmonaire permet de déterminer la vitesse pulmonaire maximale (PR max), ainsi que les temps d'accélération (AT) et d'éjection (ET) du flux en provenance du ventricule droit. L'AT et le ET, exprimés en millisecondes (ms), correspondent au temps d'intervalles systoliques (STIs). Le temps d'accélération, définit la durée entre le début du signal du flot pulmonaire jusqu'à sa vitesse maximale, tandis que le temps d'éjection mesure la période entre le début et la fin du signal (Figure 6) (Schober and Baade, 2006).

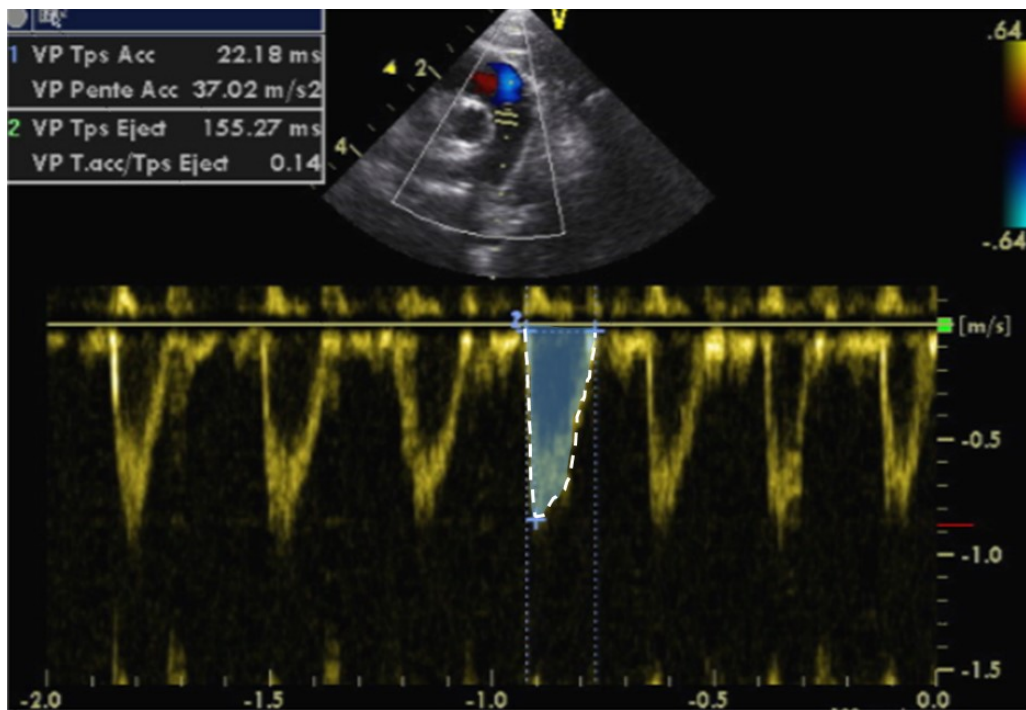


**Figure 6** – Exemple de mesure des temps d'intervalles systoliques de la valve pulmonaire chez le chat à l'aide d'une sonde Doppler spectrale guidée au flux de couleur.

*Le tracé du flot pulmonaire obtenue via l'utilisation d'une sonde Doppler spectrale guidée au flux de couleur permet la mesure des temps d'intervalles systoliques (STIs). Le temps d'accélération, désigné AT (ms), représente la durée entre le début de l'éjection (a) et l'atteinte de la vitesse maximale du flux pulmonaire. Le temps d'éjection (ET) consiste en la durée totale entre le début (a) et la fin (b) de l'éjection du flux dans le tronc pulmonaire, en millisecondes (ms) (Rhinehart et al., 2017).*



Chez le chien, une étude récente a montré l'intérêt des STIs à prédire une augmentation de la sPAP estimée en l'absence de TR. Les STIs seront discutés à la section 3.3 (Schober and Baade, 2006). En plus des STIs, il est possible d'évaluer l'intégrale de temps de la vitesse des artères pulmonaires (PAVTI). Ce paramètre correspond à l'estimation du volume de sang circulant à travers la valve pulmonaire. On l'obtient en traçant le profil du flot pulmonaire, afin de calculer l'aire sous la courbe et obtenir le volume de sang (Figure 7) le volume de sang moyen éjecté du ventricule droit lors de la systole est estimé à 420 ml/min chez le chat (Zhuang et al., 1983).



**Figure 7** – Exemple de mesure de l'intégrale de temps de la vitesse du flot pulmonaire dans le tronc pulmonaire (PAVTI) mesuré au niveau de la valve pulmonaire chez le chat à l'aide d'une sonde Doppler spectrale guidée au flux de couleur.

*Le tracé du flot pulmonaire obtenue via l'utilisation d'une sonde Doppler spectrale guidée au flux de couleur permet la mesure de l'intégrale de temps de la vitesse du tronc pulmonaire (PAVTI) grâce à l'aire sous la courbe (Zone bleue) (Rhinehart et al., 2017).*

#### 1.2.2.4 Paramètres du cœur gauche

Le retour du sang oxygéné à l'oreillette gauche par les veines pulmonaires se nomme flot veineux. Il s'effectue généralement de façon passive, influencé directement par la pression dans l'oreillette gauche et les mouvements du thorax (Sherwood, 2006). Chez le chat sain, la pression dans l'oreillette gauche se situe normalement autour de 2 à 3 cmH<sub>2</sub>O, soit environ 2 mm Hg (Zhuang et al., 1983). Son intensité variera selon la qualité de la fonction cardiaque gauche. Cette dernière peut être évaluée en mesurant à l'échocardiographie la vitesse maximale du flux aortique (VA max), le diamètre de l'aorte (AoD), ainsi que la valeur du ratio entre AoD et le diamètre de l'oreillette gauche (LA:AoD). Bien que le cœur gauche serve principalement à fournir l'apport sanguin à la circulation systémique, il est important de considérer ces facteurs dans l'hémodynamie pulmonaire. En effet, un flot veineux pulmonaire anormal ou une condition pathologique du cœur gauche pourrait induire une accumulation de sang dans les veinules et les capillaires pulmonaires, augmentant la PVR et la PAP (Vezzosi and Schober, 2019; Zhuang et al., 1983).

### 1.3 Résistance vasculaire pulmonaire et compliance des vaisseaux

La résistance vasculaire pulmonaire (PVR), témoignant de l'ensemble de l'arbre artériel et veineux pulmonaire, peut être estimée grâce à la formule suivante :

$$PVR = sPAP/PAVTI$$

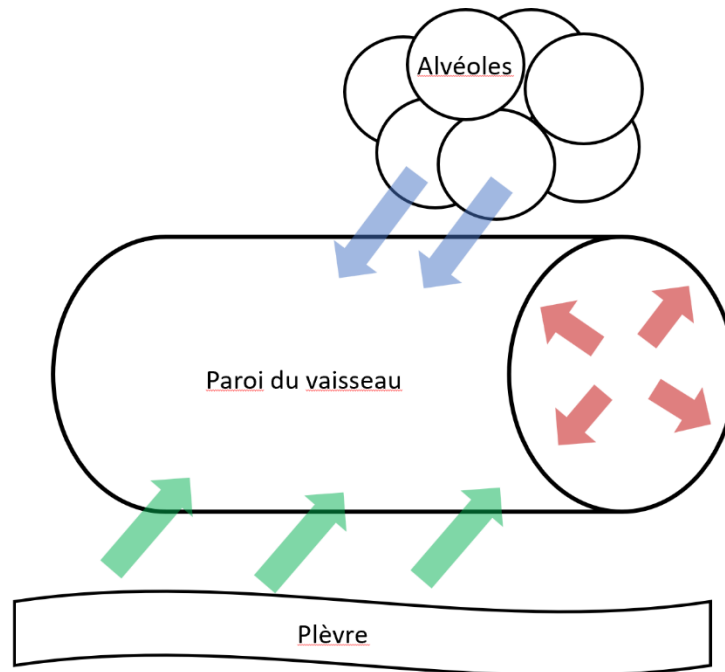
En utilisant l'intégrale de temps de la vitesse des artères pulmonaires (PAVTI) et l'estimation de la PAP systolique (sPAP) obtenue grâce à la formule simplifiée de Bernoulli, on obtient une estimation de la résistance de la circulation pulmonaire (Opotowsky et al., 2013). La PVR est importante à estimer dans l'évaluation de causes d'hypertension pulmonaire, discutées à la section 3. Chez le chat, les artères et artérioles sont responsables de près de 45 % de la résistance vasculaire lobaire pulmonaire, comparativement à 35 % pour les capillaires et 20 % pour les veines. (Rhodin, 1978).

Une autre donnée importante à considérer lors de l'étude des vaisseaux sanguins est leur capacité à s'étirer, soit la compliance (C). La composition tissulaire des vaisseaux permet cette résistance aux forces qu'exerce la pression sur leur paroi. La résistance des artères pulmonaires est supérieure à celle des veines pulmonaires en raison de leur composition qui diffère (sections 2.1 et 2.4). En effet, les veines peuvent accommoder une plus grande quantité de sang sans influencer la pression

grâce à leur élasticité, tandis que les artères, spécialisées pour résister à de fortes pressions, maintiennent un tonus constant limitant leur flexibilité. Les veines ont donc une compliance plus élevée que les artères (Sherwood, 2006).

La pression pleurale, la pression intra-alvéolaire et la pression sanguine sont les forces externes qui influencent la compliance des vaisseaux. En effet, en exerçant une pression depuis l'extérieur, la pression pleurale et intra-alvéolaire limite la capacité du vaisseau à s'étirer. La pression sanguine, quant à elle, exerce une force depuis l'intérieur, poussant la paroi à prendre de l'expansion et à s'étirer. Ces pressions affectent directement la résistance qu'imposera le vaisseau sur la circulation pulmonaire (Figure 8). La compliance artérielle chez le chat varie de 1,35 à 0,004 en fonction de l'ordre du vaisseau ciblé (Zhuang et al., 1983). Bien que la compliance artérielle soit généralement moindre que celle des veines, certaines études chez le chat et le chien soutiennent qu'elle soit suffisante pour induire une réduction significative de la résistance caractéristique à la circulation pulmonaire. Ainsi, une résistance faible des vaisseaux pulmonaires ainsi qu'un débit sanguin important permettent une oxygénation optimale du sang et pourraient s'expliquer par une compliance importante des vaisseaux pulmonaires (Al-Tinawi et al., 1991; Zhuang et al., 1983).

Il est important de noter que la pression pleurale et la pression intra-alvéolaire ne sont pas des phénomènes constants. En effet, la pression intra-alvéolaire, soit la pression exercée par les gaz contenus dans l'alvéole, et la pression pleurale sont influencées par les mouvements thoraciques qui assurent le flot d'air dans les voies respiratoires. Lorsque le volume d'air des alvéoles augmente à l'inspiration, leur paroi distendue exerce une pression sur les vaisseaux, augmentant la résistance vasculaire à l'intérieur de ceux-ci. À l'expiration, le volume alvéolaire diminue, ce qui réduit la force exercée sur les vaisseaux et diminue la résistance. Ce mécanisme agit à titre de pompe respiratoire et favorise le retour veineux (Zhuang et al., 1983).



**Figure 8** – Schéma des différentes forces influençant la compliance des vaisseaux pulmonaires. Lors des mouvements thoraciques à l’inspiration et l’expiration, les pressions pleurale (vert) et alvéolaire (bleu) appliquent une force sur les parois extérieures des vaisseaux pulmonaires. Les variations constantes de ces forces affectent directement la compliance des vaisseaux pulmonaires, qui elle, affecte directement la pression sanguine (rouge) (Zhuang et al., 1983).

Chez un individu sain, l’air circule librement dans les différentes voies respiratoires, et la force appliquée sur les vaisseaux n’influence pas la qualité de la circulation pulmonaire. Chez des individus souffrant d’atteintes respiratoires et chez lesquels le volume d’air inspiré ou expiré pourrait être sous optimal, comme lors d’un pneumothorax par exemple, cette force peut entraîner des conséquences importantes sur la qualité de la circulation sanguine pulmonaire (Sherwood, 2006). Ces changements seront discutés plus en détail à la section 3.3.

#### 1.4 Homéostasie de la pression sanguine pulmonaire

L’action directe des vasodilatateurs locaux tels que l’oxyde nitrique (NO) (Morrell, 2014) et le contrôle neuronal (ex. : acétylcholine) assurent le maintien minimal du tonus au sein des artères pulmonaires en réponse aux informations de barorécepteurs distribués dans les vaisseaux pulmonaires (Rhodin, 1978).

La pression partielle des gaz ( $\text{CO}_2$  et  $\text{O}_2$ ) dans le sang influence également la vasoconstriction des artères pulmonaires et la vasodilatation des capillaires pulmonaires. En effet, l'hypoxie alvéolaire, soit une réduction de la pression partielle d'oxygène dans l'alvéole, entraînera une rapide vasoconstriction des artères pulmonaires. Ce phénomène est contraire à la réaction des artères de la circulation systémique où l'hypoxie entraîne une vasodilatation (Sherwood, 2006).

Ce mécanisme de vasoconstriction, bien décrit chez l'humain et propre à la circulation pulmonaire, est le plus fortement observé dans les cellules musculaires lisses des artères musculaires pulmonaires. La soudaine réduction du rayon induit une augmentation de la résistance dans ces vaisseaux. L'un des avantages potentiels de ce phénomène serait de rediriger le sang vers les portions mieux oxygénées du poumon (Anand, 1994). De plus, la vasoconstriction augmente la résistance vasculaire engendrant une élévation soudaine de la PAP. Afin d'y résister, le ventricule droit augmente son volume d'éjection et les capillaires pulmonaires sont recrutés afin d'accommoder une plus grande quantité de sang. Ces mécanismes permettent d'augmenter le débit sanguin et retournent le volume d'éjection du ventricule droit à une valeur normale, tout en oxygénant un maximum de globules rouges (Wagner et al., 1979). Ces signaux constants assurent le maintien d'un tonus minimal des artères pulmonaires, ce qui réduit la résistance vasculaire, minimisant la pression tout en permettant un afflux sanguin plus important dans la circulation pulmonaire.

Le maintien des valeurs normales de pression sanguine est absolument nécessaire afin de conserver l'intégrité du parenchyme pulmonaire et ses fonctions. En effet, en plus de la structure non fenestrée des capillaires (section 2.2), la pression osmotique sanguine, estimée à 25 mm Hg, joue un rôle majeur dans la conservation des liquides dans les capillaires. Une pression sanguine capillaire sous cette valeur assure une pression nette qui conserve le plasma dans les capillaires, évitant des fuites de liquide dans les alvéoles (Figure 9). Lorsque la PAP dépasse les 25 mm Hg, les artérioles peuvent difficilement réguler la pression dans le lit capillaire, ce qui peut mener à de graves conséquences (section 3.3) (Sherwood, 2006).

Conditions homéostatiques :

Pression sanguine:

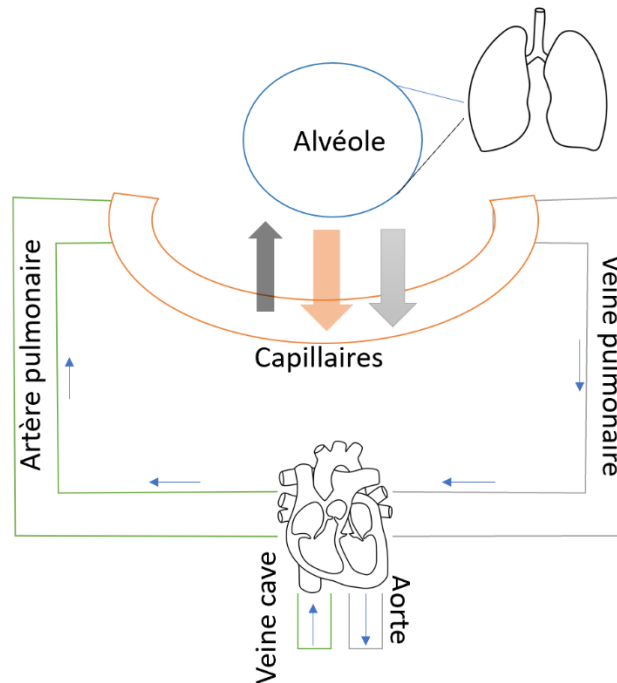
**10 mmHg**

Pression osmotique:

**25 mmHg**

Pression nette:

**15 mmHg**



**Figure 9** – Schéma de l'équilibre des pressions dans les capillaires de la circulation pulmonaire.

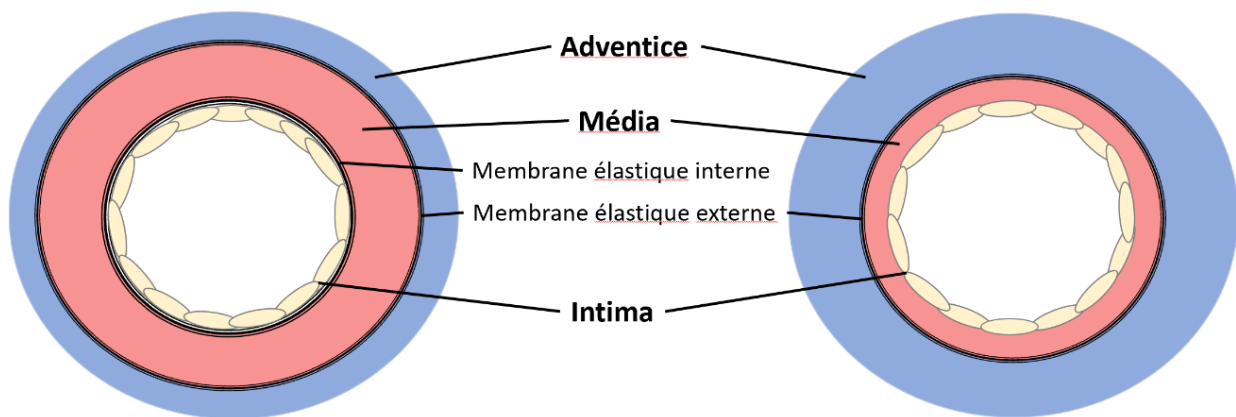
*La pression nette (gris) résultant de la pression sanguine capillaire (noir) et la pression osmotique sanguine (orange) permettent de conserver la portion liquide du sang dans les capillaires, prévenant les fuites dans les alvéoles. Flèches bleues : Direction du sang dans la circulation pulmonaire (Sherwood, 2006).*

## 2 – Histologie normale des artères et veines pulmonaires

L'histologie des artères pulmonaires diffère de celle de la circulation systémique. En effet, le tonus au repos des artères pulmonaires est moindre, ce qui minimise la résistance vasculaire et permet de maintenir une pression sanguine minimale. Elles subissent donc une moins grande pression que dans la circulation systémique. Cette différence s'observe par une lumière plus grande pour un calibre similaire et une couche de muscle lisse (section 2.1.2) plus mince par rapport aux artères de la circulation systémique (Morrell, 2014).

### 2.1 Tuniques

La paroi des vaisseaux sanguins est composée de trois couches distinctes nommées tuniques (Figure 10). Leur composition et leur épaisseur, spécifiques au type vasculaire [artère vs veine], confèrent des propriétés aux artères différentes de celles des veines. En effet, les artères transportent une grande quantité de sang à une vitesse rapide, les exposant à une pression forte, tandis que les veines transportent un grand volume de sang à une vitesse et pression faibles (Banks, 1981). Pour résister à cette pression, les artères contiennent davantage de muscles lisses, facilitant leur reconnaissance à l'histologie comparativement aux veines (Ross, 2006).



**Figure 10** – Schéma de la structure des tuniques chez les artères et veines pulmonaires.

*Schéma montrant les différences structurelles des artères (gauche) :et veines pulmonaires (droite). Toutes deux sont composées de trois tuniques, intima, média et adventice, mais leurs proportions diffèrent. On note également la présence d'une membrane élastique interne entre l'intima et la média chez l'artère, qui est absente chez la veine (Ross, 2006).*

### 2.1.1 Intima

Il s'agit de la couche la plus interne et directement en contact avec la lumière du vaisseau dans laquelle circule le sang. Elle est composée de cellules endothéliales pavimenteuses formant un endothélium organisé de façon longitudinale par rapport au vaisseau afin d'assurer le glissement du sang et limiter les forces de résistance. À sa surface opposée (c.-à-d. la surface basale), l'endothélium est délimité par une lame basale, composée de collagène, de glycoprotéines et de protéoglycans. Celle-ci assure la solidité des liens entre les cellules endothéliales. La couche sous-endothéliale, composée de tissu conjonctif lâche et de fibroblastes, est présente sous la lame basale. Dans les artères pulmonaires, une membrane élastique interne, soit un feuillet de fibres d'élastine, complète cette tunique (Banks, 1981; Ross, 2006).

### 2.1.2 Média

Cette tunique s'attache à la membrane élastique interne des artères pulmonaires, et directement à la couche sous-endothéliale pour les autres vaisseaux. La média consiste principalement en un arrangement circulaire de cellules musculaires lisses. Ces cellules sont aplaties et leurs noyaux allongés. En temps normal, on ne retrouve pas de fibroblastes dans cette tunique ; les cellules musculaires lisses sécrètent l'élastine et le collagène qui y sont observés. La membrane élastique externe, une mince couche de fibre d'élastine et de protéoglycans, délimite la média à sa surface abluminale (Ross, 2006).

### 2.1.3 Adventice

Cette tunique délimite l'extérieur du vaisseau et est composée principalement de fibres de collagène, de fibroblastes et de fibres élastiques, dont l'orientation et l'arrangement diffèrent selon le calibre du vaisseau observé. Dans les vaisseaux de gros calibre, on retrouve des structures comme le *vasa vasorum*, un réseau de vaisseaux sanguins provenant de la circulation systémique, assurant la nutrition des cellules composant les tuniques du vaisseau, ainsi que le *nervi vasorum*, un réseau de nerfs autonomes qui régulent la contraction des muscles lisses de la média. Lors d'atteintes aux vaisseaux, l'adventice agit comme site de recrutement des cellules du système immunitaire via les canaux lymphatiques qui la traversent (Witter et al., 2017). Bien qu'il puisse parfois être difficile de distinguer les limites de l'adventice par rapport aux tissus conjonctifs des structures environnantes, l'arrangement des fibres qui la composent devrait normalement être

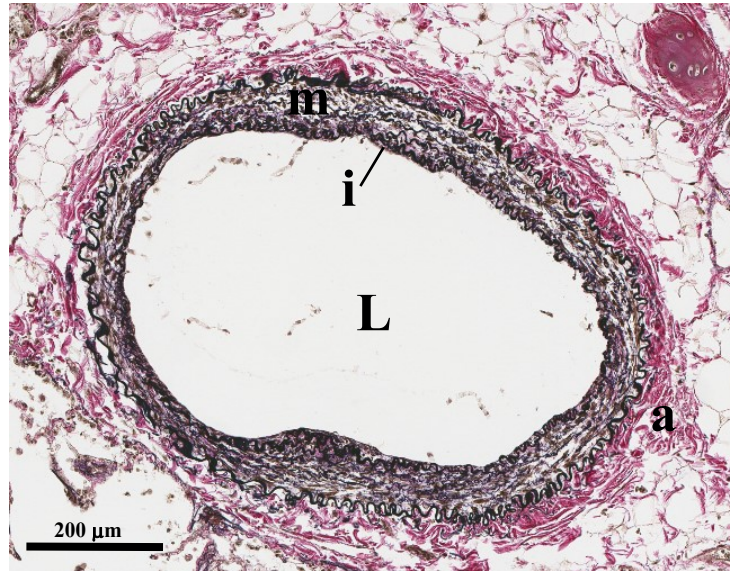


différenciable et son épaisseur observée en coupe transverse ne devrait pas excéder celle de la média chez les artères de tout calibre (Ross, 2006; Witter et al., 2017).

## 2.2 Artères et artérioles pulmonaires

À la suite de la contraction ventriculaire droite, le sang désoxygéné est propulsé dans le tronc pulmonaire, un segment court d'environ 1 cm de longueur et de diamètre luminal moyen de 0,986 cm chez le chat (Yen et al., 1984). Comme le tronc pulmonaire reçoit la totalité du volume sanguin expulsé par le ventricule droit, sa composition est celle d'une artère élastique large. Sa principale caractéristique histologique est la présence de lamelles élastiques fenestrées concentriques entre les différentes couches de muscles lisses de la média. Chez l'humain son épaisseur varie en fonction de l'âge et de la pression sanguine de l'individu (Ross, 2006). Ces lamelles assurent la résistance de l'artère à la force exercée par l'arrivée du sang lors de la systole. La média du tronc pulmonaire est très épaisse, avec plus de 10 couches de cellules musculaires lisses. L'adventice est en général moins épaisse que la média. Elle comprend des fibres d'élastine et de collagène, des macrophages ainsi que des fibroblastes et le *vasa/nervi vasorum*. L'intima est relativement épaisse et la membrane élastique interne est difficile à identifier, se confondant avec les nombreuses fibres élastiques de la média lors de l'utilisation de colorations histologiques standards telles que l'hématoxyline et éosine (Figure 11). Des cardiomyocytes peuvent être retrouvés dans la média des portions d'artères les plus proximales au cœur (Ross, 2006).

À l'embranchement du tronc pulmonaire, le flot sanguin se divise à parts égales dans les artères pulmonaires gauche et droite. Ces courts segments, bien que de diamètres plus petits que celui du tronc pulmonaire, ont une composition de leur paroi similaire à ce dernier, soit de type élastique large (Yen et al., 1984).

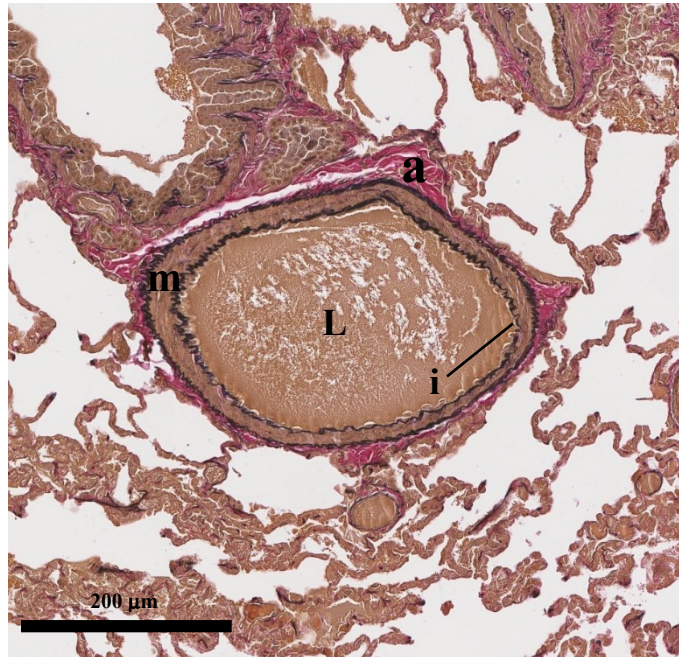


**Figure 11** – Artère élastique large.

*Exemple d'une artère élastique large saine d'un chat mâle stérilisé de 10,5 ans. L'intima (i) est très mince, composée d'une seule couche d'endothélium et délimite la lumière (L) du vaisseau. La média (m) est très épaisse et comprend beaucoup de fibres d'élastine, qui est caractéristique aux artères larges. L'adventice (a) est de taille légèrement moindre à celle de la média et délimite le périmètre externe du vaisseau (Ross, 2006) - Verhöeff-van Gieson, 200X, échelle 200 μm.*

Le sang chemine ensuite vers les différents lobes pulmonaires grâce à une série d'embranchements d'artères pulmonaires gauche et droite. Ces subdivisions suivent étroitement celles de l'arbre bronchique d'où leur appellation similaire. Chaque bronche est ainsi flanquée d'une artère pulmonaire du même nom (par exemple, l'artère lobaire caudale droite chemine dans le lobe pulmonaire caudal droit aux côtés de la bronche lobaire caudale droite) (Pasquini, 2003). Ces artères, de plus petit calibre que les artères élastiques larges, sont appelées artères musculaires moyennes (Figure 12). Elles se distinguent des artères élastiques par une membrane élastique interne (IEL) bien délimitée et la disparition des lamelles de fibres élastiques dans la média. On note également la présence d'une membrane élastique externe (EEL) entre la média et l'adventice. La média comprend généralement plus de 10 couches de cellules musculaires lisses et est exempte de fibroblaste. L'adventice a souvent la même épaisseur que la média, ce qui la caractérise comparativement à celle des autres types d'artères. Il est important de se rappeler que les changements histologiques se font graduellement à mesure que le calibre du vaisseau diminue, il

est donc possible de retrouver quelques fibres d'élastine dans la média des artères moyennes de plus grand calibre (Ross, 2006).

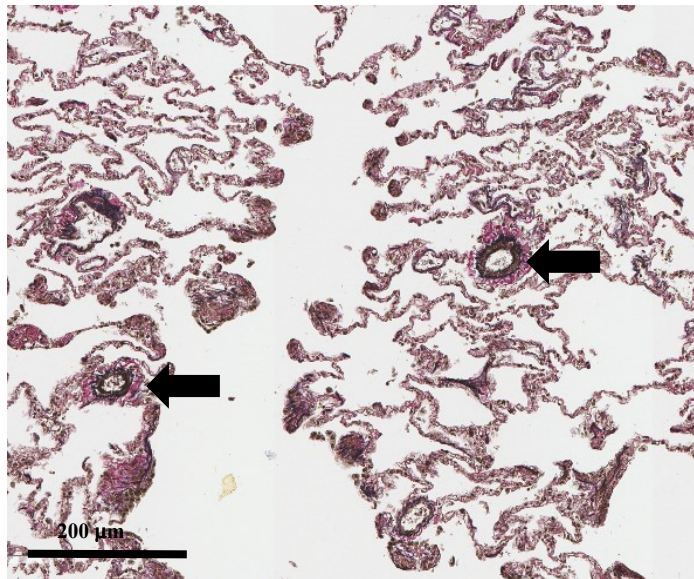


**Figure 12** – Artère musculaire moyenne.

*Exemple d'une artère élastique large saine d'un chat femelle stérilisé de 10,5 ans. L'intima (i) est très mince, composée d'une seule couche d'endothélium et délimite la lumière (L) du vaisseau. La média (m) est clairement délimitée de l'intima par les couches élastiques interne et externe. L'adventice (a) est généralement de taille similaire à celle de la média et délimite le périmètre externe du vaisseau (Ross, 2006) - Verhoeff-van Gieson, 200X, échelle 200 µm.*

Distalement aux artères musculaires moyennes, on retrouve les petites artères musculaires. Leur structure est globalement similaire à celle des artères moyennes à l'exception de leur média, qui ne dépasse généralement pas 5 à 8 couches de cellules musculaires lisses. À mesure que leur calibre décroît, la IEL devient parfois impossible à distinguer. Seules des colorations spécifiques à l'élastine, telles que la Verhoeff-van Gieson, permettent de bien l'observer. L'adventice des petites artères musculaires, soit d'un calibre inférieur à 301 µm, est généralement mince et comprend des fibroblastes en quantité modérée. Lors d'une étude réalisée sur deux chats, l'épaisseur moyenne combinée de l'intima et de la média pour ces artères était de 16 µm et celle de l'adventice de 12 µm (Rhodin, 1978).

Des petites artères musculaires, le sang emprunte ensuite les artérioles pulmonaires (Figure 13) transportant le sang vers le lit capillaire (Figure 14). On les retrouve toujours près des conduits alvéolaires et des bronchioles respiratoires. Leur portion terminale est la région du sphincter précapillaire. À noter que chez le chat, il n'y a pas de sphincters à proprement parler, mais plutôt un épaississement de la média qui permet la régulation de la pression sanguine et du débit sanguin via la contraction musculaire (Rhodin, 1978). La structure histologique des artérioles pulmonaires ressemble à celle des artères musculaires, hormis leur média qui ne comprend qu'une à deux couches de cellules musculaires lisses organisées de façon circulaire ou spiralée. La membrane élastique interne est rarement présente. Leur adventice est très mince et se perd dans le tissu conjonctif lâche des structures adjacentes (Rhodin, 1978). Les artérioles ont la capacité de se dilater de 60 à 100 % de leur diamètre au repos, et de maintenir un état de contraction (jusqu'à 40 %) sur une longue période (Ross, 2006). Le diamètre de leur lumière et leur calibre peuvent donc varier selon le moment du prélèvement tissulaire, mais leur calibre ne dépasse jamais les 100  $\mu\text{m}$  chez le chat (Rhodin, 1978).

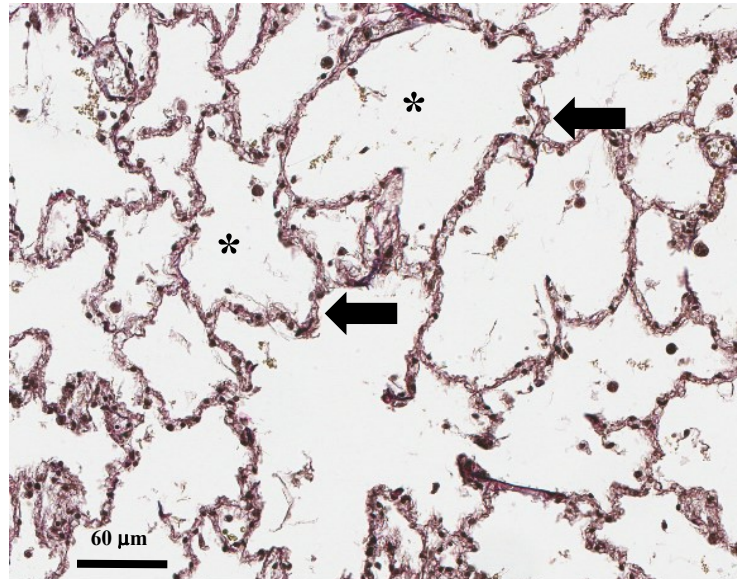


**Figure 13** – Artérioles.

*Artérioles saines d'une chatte stérilisée de 12 ans. Les artérioles sont identifiées par les flèches. Leur structure est similaire à celle des artères musculaires de petit calibre, soit une intima très mince, une média bien délimitée par les couches élastiques interne et externe et l'adventice avec la plus ou moins la même taille que la média. À noter que la média des artérioles disparaît à mesure que leur calibre diminue. Généralement, on y retrouve qu'une à deux couches de cellules musculaires dans la média (Rhodin, 1978) -Verhoeff-van Gieson, 200X, échelle 200  $\mu\text{m}$ .*

## 2.3 Capillaires

Les capillaires (Figure 14) sont les plus petits vaisseaux sanguins. Leur lumière ne laisse passer qu'un seul globule rouge à la fois. Leur nombre chez le chat est estimé à  $300 \times 10^6$  et leur calibre oscille entre 5 et 10  $\mu\text{m}$  (Rhodin, 1978; Yen et al., 1984). Les capillaires sont situés dans la septa alvéolaire et irriguent plus d'un alvéole à la fois. Leur rôle principal consiste à faciliter les échanges gazeux avec les alvéoles. Ils jouent également un rôle dans les échanges de nutriments avec les cellules épithéliales alvéolaires appelées pneumocytes. Leur paroi endothéliale est continue [non fenestrée], tout comme leur membrane basale, prévenant la perte de liquide dans les alvéoles. Ils sont dépourvus de média et d'adventice. Quelques péricytes, cellules contractiles répondant aux signaux paracrines des cellules endothéliales (section 1.4) sont présents, quoiqu'en quantité moindre chez le chat que chez d'autres espèces (Rhodin, 1978). Ces cellules peuvent moduler le débit sanguin à même le lit capillaire. Histologiquement, elles ressemblent à des cellules mésenchymateuses non différenciées avec un noyau de bonne taille, situé en bordure de la membrane basale des capillaires. Elles auraient la capacité de se différencier en plusieurs types de cellules retrouvées dans les tissus circulatoires vasculaires (Ross, 2006).

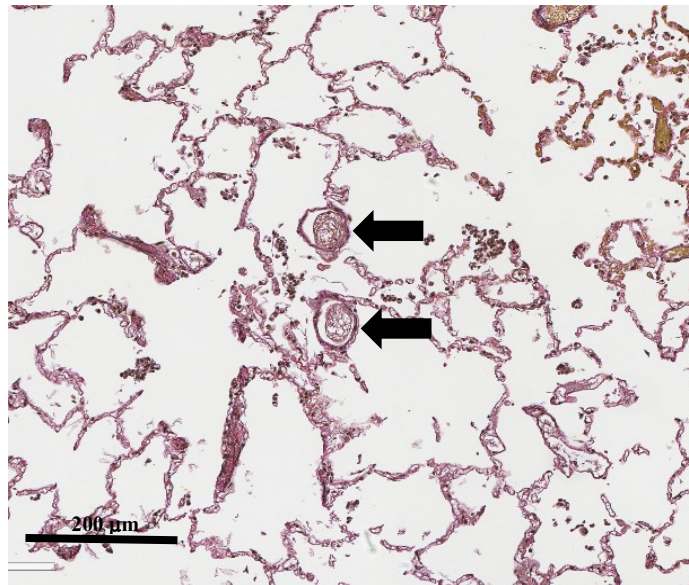


**Figure 14** – Lit capillaire pulmonaire.

*Exemple de lit capillaire pulmonaire sain provenant d'une chatte non stérilisée âgée de 1 an (Rhodin, 1978). \* : Alvéole. Flèche : Capillaire – Verhoeff-van Gieson, 400X, échelle 60  $\mu\text{m}$ .*

## 2.4 Veines et veinules pulmonaires

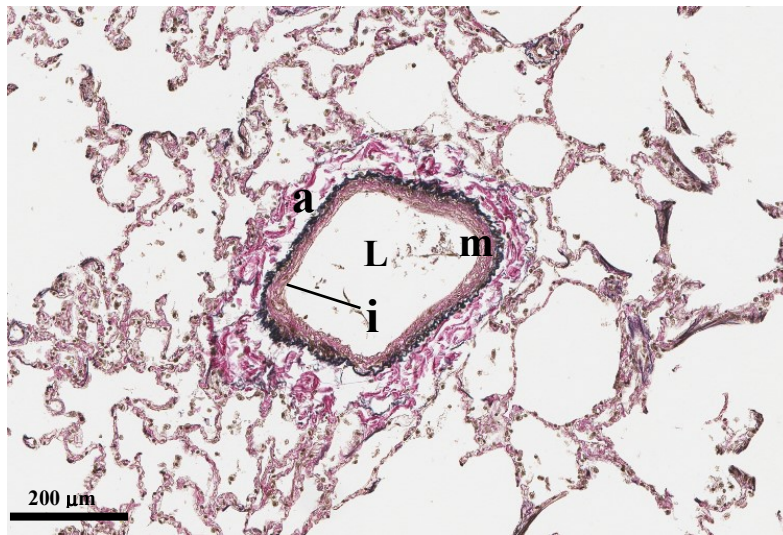
Une fois oxygéné, le sang s'écoule passivement dans les veinules postcapillaires (Figure 15). Contrairement aux artères et artérioles, ces petits vaisseaux se retrouvent majoritairement à même le parenchyme pulmonaire, loin des grandes voies aériennes. Les veinules pulmonaires sont composées principalement d'endothélium et de péricytes. Occasionnellement, elles comprennent quelques cellules musculaires lisses chez le chat, auquel cas elles afficheront alors des jonctions myoendothéliales. Aucune membrane basale ne sépare les cellules musculaires lisses de l'endothélium. Ces jonctions particulières supposent un rôle particulier des veinules dans le maintien d'une pression sanguine optimale dans le lit capillaire, grâce aux communications paracrines et endocrines des cellules endothéliales. Les veinules pulmonaires ne possèdent pas de média et leur adventice est plutôt mince (Rhodin, 1978). La portion des veinules postcapillaires s'éloignant du lit capillaire est appelée veinule musculaire. Ces vaisseaux sont caractérisés par l'apparition d'une tunique média, soit une petite couche musculaire allant de 1 à 2 couches de cellules musculaires lisses. Leur adventice est mince, mais nettement plus épaisse que la média. Leur calibre chez le chat est de 10 à 50  $\mu\text{m}$ . Ces vaisseaux se retrouvent éparés dans le parenchyme pulmonaire (Rhodin, 1978; Ross, 2006).



**Figure 15** – Veinules pulmonaires.

*Exemple de veinules pulmonaires (flèches) saines obtenues chez un chat mâle stérilisé de 13 ans. On note l'absence de bronchioles adjacentes aux veinules et la paroi mince caractéristique de ces vaisseaux (Rhodin, 1978) – Verhoeff-van Gieson, 200X, échelle 200  $\mu\text{m}$ .*

Le flot sanguin quitte progressivement les veinules pour atteindre les veines petites et moyennes (Figure 16). Elles aussi sont situées loin des grandes voies aériennes et souvent distribuées en périphérie des segments broncho-pulmonaires. Leur média comprend jusqu'à 5 couches de cellules musculaires lisses ainsi que des fibres de collagène séparant les cellules. Leur adventice est très épaisse, soit plus que la média, et comprend une faible proportion de fibres élastiques. Quelques rares valvules peuvent être observées dans ces vaisseaux, particulièrement celles situées sous le cœur. Les valvules consistent en une évagination de l'intima dans la lumière qui empêche le refoulement du sang vers le lit capillaire (Rhodin, 1978; Ross, 2006). Le diamètre moyen de leur lumière tourne autour de 450  $\mu\text{m}$  et leur calibre chez le chat, varie entre 50 et 1000  $\mu\text{m}$  (Rhodin, 1978).



**Figure 16** – Veine pulmonaire moyenne.

*Veine pulmonaire moyenne saine observée chez un chat mâle stérilisé de 10,5 ans. On retrouve l'intima (i), couche très mince d'endothélium délimitant la lumière (L) du vaisseau, la média (m), couche musculaire composée d'environ 5 couches de myocytes et bien délimité par la couche élastique externe. On note l'absence de couche élastique interne, ce qui les différencie des artères pulmonaires. L'adventice (a) est très épaisse et peut présenter des fibres élastiques. (Rhodin, 1978) – Verhoeff-van Gieson, 200X, échelle 200  $\mu\text{m}$ .*

Après les veines moyennes, le sang oxygéné chemine à travers les veines pulmonaires larges (Figure 17) retournant le sang vers le cœur à l'oreillette gauche. La composition de ces vaisseaux leur procure une certaine flexibilité, accommodant ainsi un volume sanguin plus important que celui des artères pulmonaires (Pasquini, 2003). Chez le chat, le sang atteint l'oreillette gauche via

trois entrées : crâniale droite, crâniale gauche et caudodorsale (Panopoulos et al., 2019). La caractéristique histologique principale des veines pulmonaires larges est leur adventice nettement plus épaisse que la média. On peut également y retrouver du muscle lisse distribué longitudinalement. Proximement au cœur, des cardiomyocytes peuvent être identifiés dans la paroi musculaire des veines. La distinction entre l'intima et la média y est difficile, car des cellules musculaires lisses se retrouvent dans les deux tuniques. Leur média comprend environ 2 à 15 couches de muscle lisse parsemé de fibres de collagène, produites par les fibroblastes présents dans la média de ces vaisseaux (Ross, 2006).



**Figure 17** – Veine pulmonaire large.

*Veine pulmonaire large saine d'un chat mâle stérilisé âgé de 10,5 ans. On y retrouve l'intima (i) et la média (m), qui sont difficiles à distinguer, car on retrouve des myocytes dans l'intima. La média comprend cependant 2 à 15 couches de myocyte et est bien délimité par une membrane élastique externe. L'adventice (a) est très épaisse, et fait souvent plus du double de l'épaisseur de la média. L : lumière du vaisseau. (Ross, 2006) – Verhoeff-van Gieson, 200X, échelle 200 µm.*



## 3 – Hypertension pulmonaire

### 3.1 Définition

L'hypertension pulmonaire (PH) est une condition caractérisée par l'augmentation de la pression artérielle pulmonaire systolique (sPAP) au-delà de 25 mm Hg au repos (Hoeper et al., 2013). Chez l'humain, cette condition est classée en cinq groupes par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), selon les conditions menant à l'augmentation de la PAP (Simonneau et al., 2004) :

#### 3.1.1 Hypertension pulmonaire artérielle

Autrefois connue sous le nom d'hypertension pulmonaire primaire, ce sont des atteintes vasculaires, telle que l'hypertension pulmonaire idiopathique, diverses mutations génétiques, ou encore, des troubles de la régulation de la production du collagène, qui induisent l'élévation anormale de la PAP. En effet, c'est la présence de lésions vasculaires diffuses et sévères des artères pulmonaires découlant de ces conditions qui affecte la résistance vasculaire pulmonaire et mène à l'hypertension pulmonaire. On qualifie cette hypertension de précapillaire, car elle affecte seulement les artères pulmonaires. (Simonneau et al., 2013).

#### 3.1.2 Hypertension causée par des atteintes du cœur gauche

Ici, ce sont les atteintes au cœur gauche qui influencent la PAP, notamment via des troubles systoliques, diastoliques ou congénitaux des chambres du cœur gauche. L'insuffisance cardiaque gauche tend à surcharger le système pulmonaire veineux, ce qui se répercute sur la pression dans le lit capillaire et augmente de façon passive la PAP. On qualifie alors cette atteinte d'hypertension pulmonaire postcapillaire (Simonneau et al., 2004).

#### 3.1.3 Hypertension causée par les atteintes pulmonaires et/ou l'hypoxie

C'est cette catégorie qui nous intéresse davantage pour ce mémoire. Chez l'humain, elle inclut les cas d'hypertension pulmonaire découlant d'atteintes pulmonaires telles que la maladie pulmonaire obstructive chronique (COPD), les maladies interstitielles du poumon et l'hypoxie chronique, notamment chez les populations vivant en haute altitude. Ce type d'hypertension est généralement précapillaire, car l'hypoxie influence la vasoconstriction des artères comme discuté précédemment à la section 1.4. Dans ce cas-ci, la réaction de vasoconstriction lors d'hypoxie persiste dans le temps, générant une augmentation importante de la PVR, et de la PAP au niveau des artères

pulmonaires (Simonneau et al., 2004). À long terme, ces phénomènes peuvent entraîner le remodelage des artères via divers signaux qui seront discutés à la section 3.4.1. Selon certains auteurs, il s'agirait de la classe de PH chez laquelle l'élévation de la PAP serait la moins sévère, lorsque comparée avec d'autres causes sous-jacentes de PH, mais cela ne l'empêche pas d'affecter la qualité de vie et la survie des personnes atteintes de cette condition. En effet, le remodelage artériel ainsi que l'élévation de la PAP peuvent affecter la qualité des échanges gazeux et aggraver l'hypoxie des patients dont le système respiratoire est déjà affaibli (Weitzenblum et al., 1984).

#### 3.1.4 Hypertension pulmonaire thrombotique chronique

Cette catégorie englobe les troubles de la coagulation pouvant mener à la PH. Dans ce cas-ci, la formation de thrombus dans les différents vaisseaux pulmonaires ou l'occlusion de vaisseaux par des embolies augmentent la résistance vasculaire pulmonaire et mènent à l'élévation de la PAP. Elle peut se manifester de façon pré ou postcapillaire, selon le site du thrombus ou de l'embolie (Simonneau et al., 2004).

#### 3.1.5 Causes multifactorielles

Cette catégorie rassemble des causes multiples pouvant mener au PH, souvent reliées à des atteintes métaboliques primaires, et dont les mécanismes sont mal compris. On y retrouve l'hyperthyroïdie, l'insuffisance rénale, les néoplasies, les anémies hémolytiques, etc. (Simonneau et al., 2013).

### 3.2 Diagnostic et mesure étalon

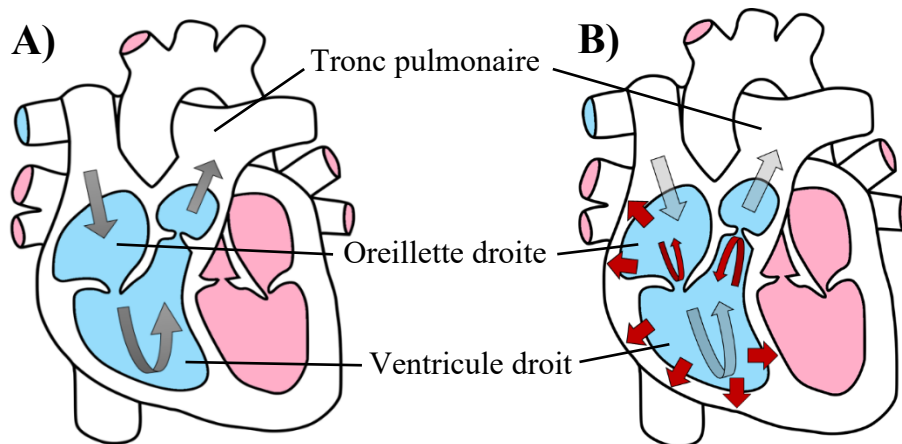
Comme nous l'avons vu à la section 1.2.2, la PAP peut être estimée grâce à l'échocardiographie. En pratique vétérinaire féline, cette méthode est privilégiée au cathétérisme du cœur droit qui, malgré une évaluation quantitative directe et plus fiable de la PAP, est plus invasif et coûteux. En somme, cette technique consiste en l'introduction d'un cathéter dans la veine jugulaire du patient, en remontant jusque dans l'oreillette droite, franchissant ensuite la valve tricuspide en direction du ventricule, et enfin, traverser la valve pulmonaire en se plaçant dans le tronc pulmonaire afin d'obtenir une mesure directe de la pression sanguine. La fluoroscopie guide le bon positionnement du cathéter durant la procédure (Pypendop et al., 2017). Bien que le cathétérisme du ventricule droit ou du tronc pulmonaire permette un diagnostic d'hypertension pulmonaire sans équivoque, il s'agit d'une intervention invasive qui requiert un niveau d'expertise important pour sa réalisation et pouvant être associée à des complications graves dont la mortalité du patient félin. Cela dit, la

valeur de pression artérielle pulmonaire systolique moyenne chez le chat a été obtenue via cette procédure et varie entre 20 et 25 mm Hg (Pypendop et al., 2019; Pypendop et al., 2017).

Cela dit, le consensus du collège américain de médecine interne vétérinaire (ACVIM) paru en 2020 sur la PH du chien a établi que la valeur estimée de la PAP ne suffisait pas pour décrire la probabilité de PH. En effet, des signes cliniques concomitants (ex. syncope, dyspnée au repos, détresse respiratoire, cyanose, ascite cardiogénique, etc.) en plus de changements anatomiques visibles à l'échocardiographie (artères pulmonaires, ventricule et/ou oreillette droite) doivent être présents pour valider la possibilité de PH en l'absence de cathétérisme du cœur droit (Reinero et al., 2020). À la connaissance de l'auteure, un tel consensus n'existe pas chez le chat.

### **3.3 Conséquences hémodynamiques du PH groupe 3**

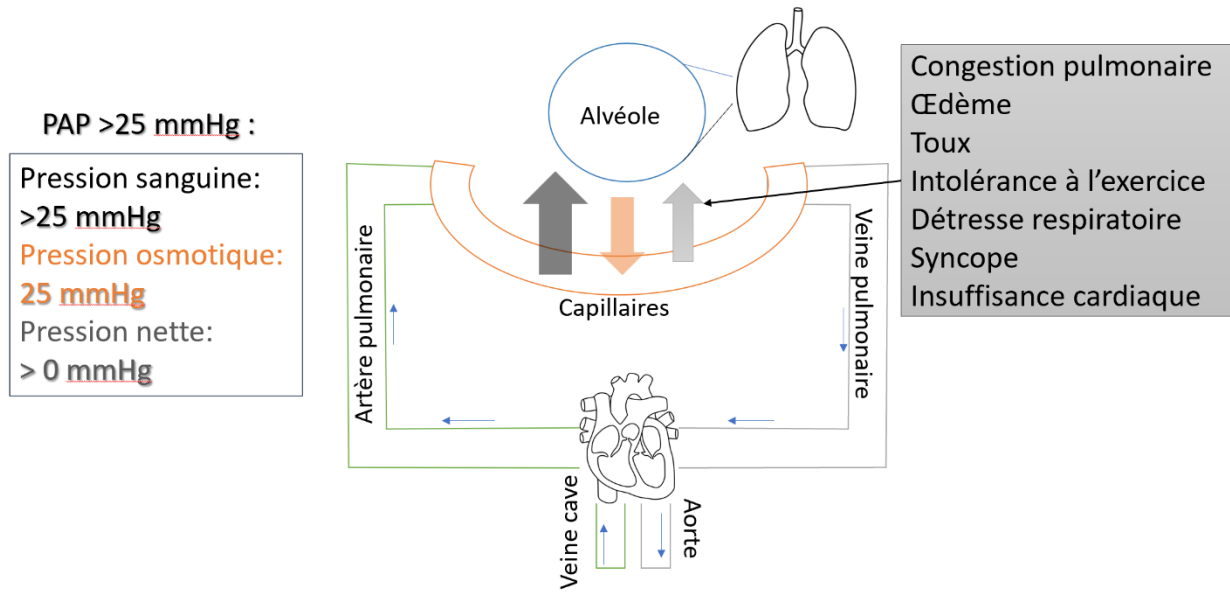
Comme mentionné plus haut, l'hypertension pulmonaire de groupe 3 se caractérise par une élévation de la PAP présente lors d'atteintes pulmonaires. Parmi les causes potentielles, l'hypoxie (section 1.4) engendrée par l'atteinte respiratoire est fréquemment citée. À long terme, l'élévation de la PVR et de la pression dans les artères et le tronc pulmonaire affectera l'efficacité avec laquelle le ventricule droit éjecte le sang à travers la valve pulmonaire. Cela aura pour effet d'imposer une plus grande charge barométrique au sein du ventricule droit. Ainsi, le sang éjecté lors de la systole ventriculaire aura tendance à se diriger dans la direction où la résistance est moindre, soit en amont, vers l'oreillette droite. Une TR est ainsi observée et la vitesse de cette TR sera proportionnelle à la sévérité de l'hypertension pulmonaire. Dans les cas les plus sévères, le refoulement est si important que l'oreillette droite devient surchargée et les veines caves crâniale et caudale augmentent en volume faute de pouvoir s'y déverser (Figure 18) (Sherwood, 2006).



**Figure 18** – Schéma du flot sanguin normal et lors d’hypertension pulmonaire.

*Schéma représentant l’hémodynamie du A) flot sanguin normal et du B) flot sanguin lors d’hypertension pulmonaire. La direction du flot sanguin normal est représentée par les flèches grises. Lors d’hypertension pulmonaire, l’élévation de la pression dans le tronc pulmonaire induit des régurgitations (flèches rouges courbées) au niveau des valves pulmonaire et tricuspide. Ce retour de sang induit ensuite une élévation de la pression dans le ventricule droit et l’oreillette droite (petites flèches rouges) ce qui peut mener à une distension de ces cavités visible à l’échocardiographie (Sherwood, 2006).*

Dans le lit capillaire, l’élévation prolongée de la PAP au-dessus de 10 mm Hg peut entraîner des conséquences graves. Au-delà de 25 mm Hg, la pression osmotique du sang ne suffit plus pour conserver les liquides dans les capillaires. S’en suit une myriade de complications cliniques, telles que décrites à la Figure 19 (Sherwood, 2006).



**Figure 19** – Schéma décrivant l'impact d'une élévation de la PAP > 25 mm Hg dans les capillaires. La pression nette (gris) résultant de la différence entre la pression osmotique (orange) et sanguine (noir) ne permet plus de conserver la portion liquide du sang dans les capillaires. La sortie de liquide séreux des capillaires jusque dans les alvéoles peut induire plusieurs signes cliniques (encadré gris). Flèches bleues : Direction du sang dans la circulation pulmonaire (Sherwood, 2006).

Ces changements hémodynamiques peuvent s'observer de diverses façons via l'échocardiographie. En effet, le diamètre des vaisseaux et des cavités cardiaques (oreillette droite et ventricule droit) sera augmenté par rapport à la normale. Une hypertrophie concentrique du ventricule droit est également possible à visualiser (Boon, 2011). Le pic de vitesse de la régurgitation tricuspидienne s'élèvera au-dessus des valeurs normales et, lors de son intégration dans la formule simplifiée de Bernoulli (Figure 4), on obtiendra une valeur estimée de la PAP au-dessus de 25 mm Hg. La PVR sera également augmentée lorsque calculée grâce aux valeurs de PAVTI (section 1.3). À l'évaluation du profil pulmonaire, on observera des profils de type 2 et 3 selon le degré de l'élévation de la PAP (Figure 5).

De plus, le temps d'accélération du flot pulmonaire sera raccourci. Ceci s'explique par la résistance élevée en amont de la valve pulmonaire, qui aura tendance à limiter les capacités du ventricule droit à éjecter le sang, diminuant le débit cardiaque. Le temps nécessaire pour atteindre le pic d'éjection est donc moindre et se traduit par une réduction de l'AT (Glaus et al., 2004; Uehara, 1993). Chez des chiens affectés par de l'hypertension pulmonaire de groupe 3, les STIs (AT et AT :

ET) ont permis de prédire la présence d'hypertension pulmonaire avec une spécificité de 87 % et une sensibilité de 73 % (Schober and Baade, 2006). Cependant, chez des chats souffrant de PH de groupe 2, les STIs n'ont pas montré de résultats significatifs suffisamment importants pour être pertinents cliniquement (Vezzosi and Schober, 2019). Cela dit, les STIs représentent une méthode d'estimation de la PAP potentiellement utile chez le chat, considérant que l'obtention de la valeur de TR n'est pas toujours possible. Lors de ce projet, cette méthode sera explorée chez des chats atteints de maladies respiratoires chroniques et sera discutée au Chapitre 2.

### **3.4 Conséquences histologiques vasculaires pulmonaires**

L'hypertension pulmonaire engendre des conséquences importantes sur l'hémodynamie et les tissus impliqués. Lors d'atteintes pulmonaires, la circulation d'air entre les différentes portions de l'arbre bronchique peut être altérée, limitant les capacités inspiratoire et/ou expiratoire, influençant la pression partielle des gaz dans les alvéoles et pouvant mener à une hypoxie chronique lorsque les limitations sont sévères. La contraction des cellules musculaires lisses des vaisseaux pulmonaires en réponse à cette hypoxie prolongée peut mener à une augmentation anormale de la PAP. Avec le temps, ce phénomène, couplé à des signaux de croissance cellulaire et de résistance à l'apoptose, serait responsable de l'apparition de lésions de remodelage vasculaire pulmonaire (RVP), de la réduction de la compliance des vaisseaux et de l'augmentation de la PVR lors d'hypertension pulmonaire du groupe 3. Les signaux cellulaires impliqués dans la croissance cellulaire sont divers et parfois méconnus, mais certains ont été identifiés chez l'humain, notamment certains facteurs de croissance endothéliaux (endothelin-1) et fibroblastiques (Tuder, 2017). À cela s'ajoute l'action de la pression intra-alvéolaire qui, lors de piégeage d'air, influence la compliance des vaisseaux. En effet, ce phénomène s'observe chez l'humain lors d'obstruction du flot d'air par diverses conditions respiratoires (ex. : emphysème, désordres bronchiolaires, asthme, etc.) (Miller et al., 2014) et peut augmenter la PVR dans des cas sévères (Tuder, 2017).

De plus, certains auteurs ayant étudié le phénomène chez l'humain évoquent la contribution des neutrophiles sur la formation de lésions de remodelage vasculaire pulmonaire en réponse aux signaux d'hypoxie, notamment concernant la résistance des cellules remodelées à l'apoptose. Sachant que la circulation pulmonaire nécessite une pression sanguine basse pour son bon fonctionnement, il est plausible de voir le RVP comme une conséquence néfaste de l'acclimatation

du système vasculaire pulmonaire face à l'élévation chronique de la pression sanguine (Mandel and Taichman, 2006; Tudor, 2017; Tudor et al., 2013b).

Chez l'humain, l'hypoxie chronique mène à des lésions vasculaires généralement réversibles à l'aide de supplémentation en oxygène et l'hypertension pulmonaire qu'elle engendre est qualifiée de faible à modérer. En effet, chez les patients humains atteints de la maladie obstructive chronique du poumon (COPD), qui touche principalement les grandes voies aériennes telles que les bronches, la PAP dépasse rarement les 30-45 mm Hg au repos (Seeger et al., 2013). À l'histologie, le RVP consiste en des lésions d'hypertrophie et d'hyperplasie de l'intima et de la média et les lésions plexiformes ou angiomatoïdes des artères pulmonaires ne sont pas courantes (Mandel and Taichman, 2006; Tudor et al., 2013b). Ces lésions seront décrites en détail à la section 3.4.1.

Cependant, lors de conditions touchant principalement le parenchyme pulmonaire et les petites voies respiratoires, telles que les maladies interstitielles du poumon et les désordres bronchiolaires, c'est la destruction du lit capillaire et des artérioles précapillaires qui cause la majeure partie de l'hypertension. Ceci s'explique par une augmentation importante de la PVR due à la perte de ces vaisseaux et au remaniement des artères proximales afin de rediriger le flot sanguin dans les portions pulmonaires saines. Les lésions causées par ce remaniement sont comparables en sévérité aux lésions d'origines cardiaques ou idiopathiques, c'est-à-dire la présence de lésions plexiformes et angiomatoïdes ainsi qu'un remodelage sévère de la média et de l'intima. L'hypertension pulmonaire observée lors de ces cas précis est souvent beaucoup plus sévère (Mandel and Taichman, 2006; Tudor et al., 2013b).

De plus, chez l'humain, plusieurs facteurs externes et propres à l'individu atteint peuvent également influencer la sévérité des lésions, notamment certaines prédispositions génétiques affectant la capacité des cellules à répondre aux signaux de vasoconstriction ou de division cellulaire, de l'efficacité de la communication cellulaire paracrine et d'autres facteurs environnementaux (ex. exposition à la fumée de cigarette, état de chair, etc.) (Tudor et al., 2013b). Par exemple, l'obésité est reconnue comme pouvant mener à des maladies restrictives pulmonaires chez l'humain, causant une hypoxie chronique, tandis que chez les fumeurs, un stress oxydatif induit par la fumée de cigarette peut mener à des lésions vasculaires importantes (Tudor et al., 2013b). La sensibilité de l'organisme aux signaux inflammatoires lors d'hypoxie est également un sujet d'intérêt pour les chercheurs (Mandel and Taichman, 2006).

Selon plusieurs chercheurs dans le domaine de la santé humaine, l'adventice jouerait également un rôle important dans le RVP lors d'atteinte pulmonaire (Chazova et al., 1995; Stenmark et al., 2011; Tuder et al., 2013b). En effet, l'hypothèse selon laquelle certains signaux de croissance cellulaire proviendraient de la couche externe (adventice) du vaisseau plutôt que de la couche interne (intima) de celui-ci semble de plus en plus plausible pour la communauté scientifique. Ce mécanisme s'expliquerait par la sécrétion de cytokines spécifiques à l'hypoxie par les fibroblastes de l'adventice. Ces molécules favoriseraient le recrutement de cellules inflammatoires à partir des vaisseaux composant la circulation bronchique et le *vasa vasorum* et envahiraient graduellement les différentes tuniques des artères pulmonaires touchées (Stenmark et al., 2011).

### 3.4.1 Remodelage vasculaire pulmonaire

#### 3.4.1.1 Définition

Le sujet d'intérêt de la seconde partie de cette revue de littérature s'intéresse au remodelage vasculaire pulmonaire (RVP) impliquant des changements dans la composition et l'épaisseur de la paroi des artères pulmonaires. Bien que des changements puissent aussi survenir dans les veines pulmonaires, ceux-ci ne feront pas l'objet de cette revue de littérature, on parlera alors de remodelage artériel pulmonaire (PAR). Le PAR est caractérisé par des lésions histologiques affectant l'intima, la média et l'adventice à différents degrés. Bien que présentes dans tous les types d'artères, ce sont les artères musculaires de petit calibre, soit entre 100 et 300  $\mu\text{m}$ , qui semblent davantage affectés par ce phénomène, et ce, peu importe la cause sous-jacente (Heath and Edwards, 1958; Tuder et al., 2013b).

Les mécanismes pathophysiologiques du PAR, et du RVP dans son ensemble, sont probablement multifactoriels et demeurent méconnus. En effet, l'une des causes identifiées de l'apparition de changements artériels est une réaction à l'élévation de la pression sanguine dans le vaisseau d'intérêt. Par exemple, lors d'augmentation du volume sanguin pulmonaire (ex. : shunt gauche-droit), la pression augmentée exercée sur la paroi des artères peut déclencher une cascade de réactions cellulaires menant à l'épaississement de ses tuniques pour non seulement augmenter la force de contractilité et déplacer le sang vers le lit capillaire, mais assurer l'intégrité des structures des vaisseaux qui pourraient être endommagées face à une pression sanguine augmentée. Dans d'autres cas, le RVP survient avant même une élévation de la PAP, et ce, de façon si importante que la pression sanguine augmente suivant l'élévation de la résistance vasculaire induite par ces



changements vasculaires. Ce chevauchement entre les causes et les conséquences du PH et du RVP complique énormément les efforts des chercheurs afin de comprendre les mécanismes qui les régulent. D'autant plus que, chez l'humain, les lésions vasculaires découlant de conditions hypoxiques ou respiratoires chroniques ne reflètent pas toujours le degré de sévérité de la condition sous-jacente ni de l'impact de cette dernière sur l'hémodynamique pulmonaire, ce qui rend leur investigation encore plus difficile (Tuder, 2017; Tuder et al., 2013b).

Cela dit, il n'est pas impossible de retrouver des lésions de RVP chez des humains en bonne santé. Lors d'une étude parue en 2012, Stacher et son équipe ont observé un chevauchement de l'ordre de 60 % des valeurs de la fraction de la paroi occupée par la média entre les patients du groupe expérimental (souffrant de PH de groupe 1,2 et 4) et du groupe contrôle (patients sains). Stacher explique que l'épaississement de la média chez des individus sains pourrait s'expliquer par l'exposition à la fumée de cigarette, l'âge et le sexe des individus. L'absence d'une augmentation de la résistance vasculaire pulmonaire chez ces individus pourrait provenir de la non-atteinte de la valeur seuil, soit plus de la moitié des vaisseaux pulmonaires (Stacher et al., 2012). Chez l'humain, on estime qu'une proportion de 80 % et plus des artères doit être remodelée pour entraîner des changements hémodynamiques importants. De plus, lors de cas légers de remodelage, certaines lésions peuvent se résorber lorsque la cause sous-jacente est enlevée ou les lésions guéries (Tuder et al., 2013a).

#### 3.4.1.2 Lésions de l'intima

L'intima est la tunique qui a le plus large éventail de lésions de remodelage possible. En temps normal, l'intima compose environ 10 % de l'épaisseur totale de la paroi de l'artère pulmonaire chez l'humain. Cependant, lors de PAR chez l'humain, une augmentation jusqu'à 3 fois cette valeur a été notée. Cette augmentation significative de l'épaisseur de l'intima a un impact majeur sur la résistance vasculaire pulmonaire, soit jusqu'à 40 fois la valeur normale de PVR chez les patients humains touchés (Tuder, 2017).

Les types de changements histologiques observables de l'intima sont divers et sont décrits ci-dessous. On peut juger de la sévérité d'une lésion de PAR par l'amplitude de l'occlusion de la lumière du vaisseau touché. Les lésions seront donc présentées en ordre croissant selon l'amplitude de l'occlusion du lumen, soit des moins occlusives aux plus occlusives.

- Changement de conformation des cellules endothéliales : Le premier changement notable de l'endothélium de l'intima est l'arrondissement des cellules endothéliales, normalement lisses et plates, et leur cytoplasme, à coloration rosée claire, tourne au brun au Verhoeff-van Gieson. Des vacuoles, identifiées notamment par leur contenu transparent, apparaissent également dans certaines cellules endothéliales. Un envahissement de l'intima par des cellules fibroblastiques sécrétant du collagène et de l'élastine serait à l'origine de cette altération structurale. Il est important de noter que ces cellules infiltrantes ont le potentiel d'exprimer l'alpha-actine des muscles lisses ( $\alpha$ -SMA) (Smith et al., 1997), ce qui, à un stade plus avancé de remodelage, peut mener à la muscularisation de l'intima. (Heath and Edwards, 1958; Tudor et al., 2007).
- Hyperplasie et hypertrophie : Le second stade de remodelage de l'intima est l'apparition de lésions excentriques, caractérisées par une hyperplasie et hypertrophie focale des cellules endothéliales. Le résultat est une protrusion de l'intima dans la lumière réduisant l'espace disponible pour le passage du sang. Les cellules endothéliales perdent complètement leur forme aplatie et adoptent une forme de plus en plus cuboïde ou arrondie. Les cellules fibroblastiques présentes continuent de sécréter le collagène et l'élastine et envahissent de plus en plus la tunique (Heath and Edwards, 1958; Tudor et al., 2007).
- Apparition de fibrose : Du tissu cellulaire fibreux envahi ensuite l'intima. À ce stade, les lésions d'abord excentriques s'étendent à la circonférence de l'intima donnant lieu à des lésions concentriques ressemblant à des pelures d'oignon. Les cellules endothéliales formeront plusieurs couches minces le long de la paroi du vaisseau, obstruant progressivement la lumière du vaisseau. Aux cellules endothéliales s'ajoutent des cellules myoendothéliales, accentuant davantage l'oblitération de la lumière par l'intima (Heath and Edwards, 1958; Tudor et al., 2007).
- Lésions paucicellulaires et fibrose intimale : Des lésions paucicellulaires, ou pauvres en cellules, principalement caractérisées par une importante présence de mucopolysaccharides, de matrice extracellulaire et de fibres de tissus conjonctifs peuvent ensuite s'y développer. Dans certains ouvrages, on nomme ces changements fibrose intimale (Tudor, 2017). Certains auteurs parleront de nécrose artérielle, car le tissu cellulaire endothélial se retrouve complètement remplacé par du tissu cicatriciel (Heath and Edwards, 1958).

- Lésions de dilatation : À ce stade, le remodelage est considéré comme avancé et le développement de lésions caractéristiques sévères est probable. Ces lésions sont souvent regroupées sous l'appellation de lésion de dilatation dans la littérature, à ne pas confondre avec la dilatation des artères en général. Cette catégorie regroupe plusieurs types de lésions telles que :
  - a. Lésions plexiformes : Ces lésions irréversibles se développent principalement à la jonction des artères musculaires de petit calibre et des artérioles, et représentent la forme la plus sévère de remodelage vasculaire pulmonaire. La prolifération extrême de la couche endothéliale limite alors le flot sanguin et entraîne une dilatation focale des artérioles en amont en saccules. Celles-ci favorisent l'accumulation de sang et peuvent mener à la formation de thrombus. Les parois de l'artère affectée, ainsi que des artérioles adjacentes, vont s'amincir suivant la pression élevée dans les sacs. Les lésions plexiformes peuvent être identifiées grâce à 3 zones relativement bien définies : une portion de tissu fibreux situé proximement, acellulaire ou non, continue avec l'intima. Une seconde zone composée de cellules endothéliales entourant les sacs et la 3e zone consiste en la présence d'un thrombus (Heath and Edwards, 1958; Maxie, 2015).
  - b. Embranchements d'apparence veineuse : Ce phénomène survient dans les artères musculaires pulmonaires de petit calibre lorsque l'intima est sévèrement affectée par le remodelage, créant une obstruction. Proximement à cet endroit, de nouvelles branches sont formées dont la structure ressemble beaucoup à celle des veines (paroi mince, peu ou pas de cellules musculaires lisses) (Heath and Edwards, 1958).
  - c. Lésions angiomatoïdes : Ces lésions ressemblent aux branches veineuses pour leur structure, cependant elles se forment à l'intérieur même de la lumière des vaisseaux. Les parois de ces protovaisseaux sont principalement composées de fibres élastiques. Dans les cas les plus avancés, ces petits vaisseaux forment une masse entourant l'artère touchée. Les protovaisseaux émergent ensuite de cette masse et fournissent l'apport sanguin aux capillaires alvéolaires. On retrouve ce type de lésion distalement à des lésions plexiformes. Chez l'humain, ces masses peuvent atteindre 1 mm de diamètre (Heath and Edwards, 1958).

### 3.4.1.3 Lésions de la média

Lors de RVP, les premiers changements structuraux apparaissent généralement dans la média. Chez les humains atteints, la fraction de la paroi occupée par cette tunique est en moyenne 20 % plus grande que chez les patients sains (Chazova et al., 1995).

La principale modification structurale de la média consiste en une hyperplasie et une hypertrophie des cellules musculaires lisses, parfois désignée comme une « muscularisation » de la média. Ce phénomène survient notamment dans les artères pulmonaires de petit et moyen calibre. Les cellules qui composent la tunique musculaire se désorganisent et s'empilent, entraînant la formation de fascicules, particulièrement dans les des cellules longitudinales situées près des membranes élastiques interne et externe (Maxie, 2015).

Dans les cas les plus sévères, des myofibroblastes sont nouvellement détectés dans cette tunique. On les remarque à la présence de vacuoles. L'envahissement de la tunique médiale par du tissu conjonctif peut également survenir, quoique de façon moins importante que dans l'intima. À ce stade avancé, les couches élastiques interne et externe sont épaissies (Heath and Edwards, 1958; Maxie, 2015).

### 3.4.1.4 Lésions de l'adventice

L'adventice peut également subir des modifications structurelles. En effet, Chazova et son équipe ont noté, lors d'une série d'autopsies de patients atteints d'hypertension artérielle pulmonaire idiopathique, une augmentation significative de l'épaisseur de l'adventice, soit de 2 à 4 fois l'épaisseur du groupe contrôle, soulignant l'importance de prendre en considération cette tunique malgré la présence de remodelage dans l'intima et la média (Chazova et al., 1995). Les lésions observables dans l'adventice et associées au remodelage vasculaire pulmonaire sont les suivantes :

- Envahissement par des cellules inflammatoires : Ce changement caractéristique est la source de plusieurs théories sur les mécanismes potentiels du RVP. En effet, plusieurs mécanismes physiologiques menant au remodelage seraient initiés dans l'adventice avant d'affecter les autres tuniques. Ceci s'expliquerait par la présence de vaisseaux lymphatiques et du *vasa vasorum*, qui agiraient à titre de réservoir de cellules inflammatoires, lesquelles contribueraient aux signalements cellulaires entraînant une cascade d'événements menant au remodelage des autres tuniques (Chazova et al., 1995; Tudor, 2017; Tudor et al., 2013b). Selon la condition pathologique sous-jacente, les cellules inflammatoires envahiraient

l'adventice, s'accumulant dans la couche de tissus conjonctifs sur toute la circonférence de l'adventice jusqu'à doubler, voire quadrupler son épaisseur normale.

- Envahissement par des fibroblastes : Les cellules produisant la matrice extracellulaire et le collagène peuvent, dans certains cas, envahir l'adventice et mener à l'épaississement de cette tunique par l'accumulation de tissu conjonctif, d'élastine et de matrice extracellulaire. Le défi lors de l'évaluation de cette tunique est d'identifier sa limite externe. En effet, lors de remodelage, la présence de tissu conjonctif en plus grande quantité peut rendre difficile la visualisation du rebord externe des artères. Les colorations spécifiques au collagène contribuent à son identification ainsi qu'une bonne connaissance des structures de base des vaisseaux et des structures environnantes (ex. : capillaires, alvéoles, structure bronchiolaire, etc.) permettent de bien en définir les limites (Tuder, 2017).

### **3.5 Hypertension pulmonaire et remodelage chez le chat**

La prévalence de l'hypertension pulmonaire et les mécanismes d'action y menant demeurent très peu connus chez le chat domestique. L'PH est un état hémodynamique pathologique anormal consistant en une augmentation de la pression artérielle pulmonaire. Les informations sur le sujet sont éparpillées chez l'espèce féline et proviennent principalement de rapports de cas (Aoki et al., 2012; Baron Toaldo et al., 2011; Dirven et al., 2012; Evola et al., 2014; MacPhail et al., 2007a; Rawlings, 1990; Vezzosi and Schober, 2019; Wander et al., 1998). Parmi les causes rapportées dans la littérature chez le chat, on retrouve les atteintes congénitales au cœur (ex. : Persistance du *ductus arteriosus*, *Cor triatriatum sinister*), la décompensation suite à une atteinte cardiaque gauche, l'obstruction des voies respiratoires supérieures suite au développement d'un polype nasal, la fibrose interstitielle pulmonaire, les thrombo-embolismes pulmonaires et les atteintes parasitaires vasculaires pulmonaires (*Dirofilaria immitis*, *Aelurostrongylus abstrusus*). Le diagnostic de PH dans ces articles repose presque exclusivement sur l'évaluation subjective des structures cardiaques à l'échocardiographie, les valeurs de TR à l'échocardiographie Doppler, et rarement sur le cathétérisme du cœur droit, la mesure étalon de la PAP.

Le faible nombre de publications à ce sujet fait contraste avec celles rapportant un RVP, qui sont plus nombreuses. En effet, plusieurs chercheurs se sont penchés sur la présence de lésions vasculaires pulmonaires chez le chat au cours du siècle dernier (Hamilton, 1966b; Olcott et al., 1946; Rogers et al., 1971; Tashjian et al., 1965). Ces études sont à la base du paradigme actuel

selon lequel le RVP chez le chat est principalement attribuable à une exposition parasitaire (*Dirofilaria immitis* et *Aelurostrongylus abstrusus*), induisant de fortes réactions inflammatoires dans les vaisseaux et le parenchyme pulmonaire, menant à l'hypertrophie de la média (Hamilton, 1970). En général, les chats plus âgés semblent montrer davantage de lésions, cependant la sévérité de celles-ci ne serait pas reliée à l'âge. Le sexe et le statut de fertilité des animaux n'auraient pas non plus d'impact sur la quantité ni la sévérité des lésions (Hamilton, 1966b; Rogers et al., 1971). La média est la tunique la plus affectée chez le chat selon la littérature (Hamilton, 1966b; Maxie, 2015; Rogers et al., 1971). Dans les études s'intéressant au RVP chez le chat à la suite d'une infection parasitaire (*D. immitis* ou *A. abstrusus*), les lésions rapportées s'apparentent à une hypertrophie, suivi d'une hyperplasie de cette dernière (Browne et al., 2005; Dennler et al., 2013). Les lésions de l'intima et de l'adventice semblent n'apparaître que lors d'un processus sévère, tel qu'une dissection de l'artère pulmonaire due à une infection à *Dirofilaria immitis* (Biasato et al., 2017), ou lors de remodelage causé par une autre cause que l'infection parasitaire pulmonaire, telle que les processus vaso-prolifératifs (Jenkins and Jennings, 2017), ou encore lors d'atteintes congénitales rares induisant de l'hypertension pulmonaire et des lésions de dilatations (Russell et al., 2015). Par ailleurs, une étude effectuée sur 3 cohortes de chats provenant de diverses sources, dont une colonie exempte de pathogènes spécifiques (SPF), laisse entendre que d'autres processus non identifiés pourraient être responsable de l'apparition des lésions de PAR chez le chat. En effet, un peu plus de 34 % des chats SPF, n'ayant pas d'historique de contact avec des parasites, montraient des lésions vasculaires pulmonaires artérielles qualifiées de modérées à sévères. De plus, près de 39 % du total des chats (n=120) inclus dans cette étude présentait du RVP (Rogers et al., 1971). En supposant que près d'un tiers des chats dans la population soient atteints de lésions de remodelage vasculaire pulmonaire de façon spontané, il est curieux que les épisodes de PH soient si rares chez cette espèce. L'exploration des processus physiologiques menant à la présence de lésions vasculaires et l'absence de conséquences cliniques hémodynamiques chez le chat pourrait aider à comprendre quels mécanismes semblent protéger le chat contre le développement d'hypertension pulmonaire malgré la présence de RVP. L'identification de joueurs importants dans ces mécanismes pourrait se traduire par des études comparatives chez les humains, et potentiellement offrir de nouvelles cibles thérapeutiques.

## 4 – Choix du modèle : Désordres bronchiolaires

Les désordres bronchiolaires (BD) sont un groupe de conditions respiratoires nouvellement décrites chez le chat domestique. Ils se définissent par des anomalies structurelles des petites voies respiratoires de moins de 2 mm, soit les bronchioles, réduisant la qualité du flot d'air dans le poumon (Reinero et al., 2019b). Leur présentation clinique est diverse quant au type de signes cliniques (toux vs tachypnée vs respiration laborieuse), leur durée avant la présentation et le signalement. Cependant, ils possèdent en commun une atteinte des bronchioles. Les lésions induites peuvent être localisées ou diffuses et peuvent être qualifiées de fibreuses ou inflammatoires selon la cause sous-jacente et les mécanismes physiologiques impliqués (Ryu et al., 2003).

Chez le chat, une classification à deux niveaux a été proposée. Le premier niveau, soit les BD primaires, est caractérisé par une atteinte spécifique des bronchioles (ex. bronchiolite infectieuse, bronchiolite constrictive/oblitérante, maladie des voies respiratoires due à la poussière minérale, etc.). Le second niveau, soit les BD secondaires, se divise en deux sous-catégories, soit l'extension de conditions affectant les grandes voies respiratoires (ex. asthme, bronchite chronique, bronchite parasitaire) et les composantes des maladies interstitielles du poumon affectant les bronchioles (ex. pneumonie cryptogénique organisée, maladie interstitielle pulmonaire) (Reinero et al., 2019b).

Les lésions associées aux BD sont diverses et varient selon la cause sous-jacente. Par exemple, lors de maladies des voies respiratoires secondaires à la poussière de minéraux, on pourra observer une population importante de cellules inflammatoires focalisées autour de dépôts minéraux, tandis que lors de pneumonies cryptogéniques organisées, les lésions sont diffuses et comprennent une quantité importante de fibroblastes dans les voies respiratoires et les alvéoles. On note également que les septas alvéolaires adjacentes aux lésions sont épaissies et parfois même détruites dans certains cas (Ryu et al., 2003). Les dommages aux bronchioles mènent à la granulation de leurs tissus, à l'hyperplasie de l'épithélium et l'accumulation de collagène (Ravaglia and Poletti, 2020). Dans certains cas, la lumière est obstruée par l'accumulation de tissus fibreux, menant à des lésions qualifiées d'obstructives. Ces lésions réduisent le flot d'air, limitant la quantité d'air disponible pour les échanges gazeux menant à l'hypoxie. On observe ce type de lésion davantage lors de BD primaire. Dans les cas où les lésions n'affectent que les parois des bronchioles, on parle alors de lésions restrictives, réduisant le volume pulmonaire. Les BD secondaires tendent à causer

davantage de lésions restrictives, mais des lésions obstructives peuvent également être observées (Jaffey et al., 2019; Ravaglia and Poletti, 2020).

Chez l'humain, il n'existe pas de classification claire de ces désordres, car les causes sous-jacentes sont multiples. Par exemple, ils peuvent être causés par l'inhalation de substances toxiques, des atteintes auto-immunes ou encore des infections bactériennes ou virales (Ryu et al., 2003).

De plus, un lien direct de cause à effet entre les BD, l'hypertension pulmonaire de groupe 3 et le RVP n'est pas clairement établi chez l'humain. Cependant, dans la classification de l'OMS des causes de PH de groupe 3, les maladies interstitielles du poumon s'y retrouvent, celles-ci étant intimement liées aux désordres bronchiolaires secondaires par le chevauchement de plusieurs causes sous-jacentes entre ces deux conditions (ex. : pneumonie cryptogénique organisée, sarcoïdose, histiocytose primaire des cellules de Langerhans, pneumonie d'hypersensibilité, bronchiolite respiratoire, pneumonie aux métaux lourds, etc.) (Mandel and Taichman, 2006; Ryu et al., 2003).

Lors de cas de BD secondaires chez l'humain, les lésions du parenchyme lors de pneumonie cryptogénique organisée ou de maladie interstitielle du poumon touchant les petites voies respiratoires peuvent mener à des lésions restrictives. C'est-à-dire, à l'épaississement de la septa alvéolaire, allant jusqu'à la destruction du lit capillaire. (Ravaglia and Poletti, 2020). La qualité des échanges gazeux est donc réduite, pouvant induire un statut hypoxique et les réactions de vasoconstriction qui s'en suivent (section 1.4). Lors de conditions extensives, où les alvéoles et les capillaires touchés ne sont pas remplacés, le statut d'hypoxie devient donc chronique, causant une augmentation significative de la PVR et de la PAP à long terme (Ravaglia and Poletti, 2020). Lors de cas de BD primaires, les lésions obstructives engendrées par celles-ci se rapprochent davantage d'un cas de COPD et d'hypoxie chronique, dont le développement d'hypertension pulmonaire est bien connu chez l'humain (Mandel and Taichman, 2006; Ryu et al., 2003).

En somme, le choix de cette condition comme modèle afin d'étudier le PAR lors d'atteintes respiratoires au cours de ce projet repose sur la présence d'une atteinte commune et spécifique des bronchioles et par un spectre varié de lésions au sein des tissus pulmonaires. De plus, la disponibilité des tissus histologiques de chats atteints de BD réduit grandement les contraintes de temps requises pour l'établissement d'un groupe expérimental.



## 5 – Précisions méthodologiques

Cette section s'intéresse aux caractéristiques spécifiques aux colorations et mesures histologiques effectuées lors de ce projet de maîtrise.

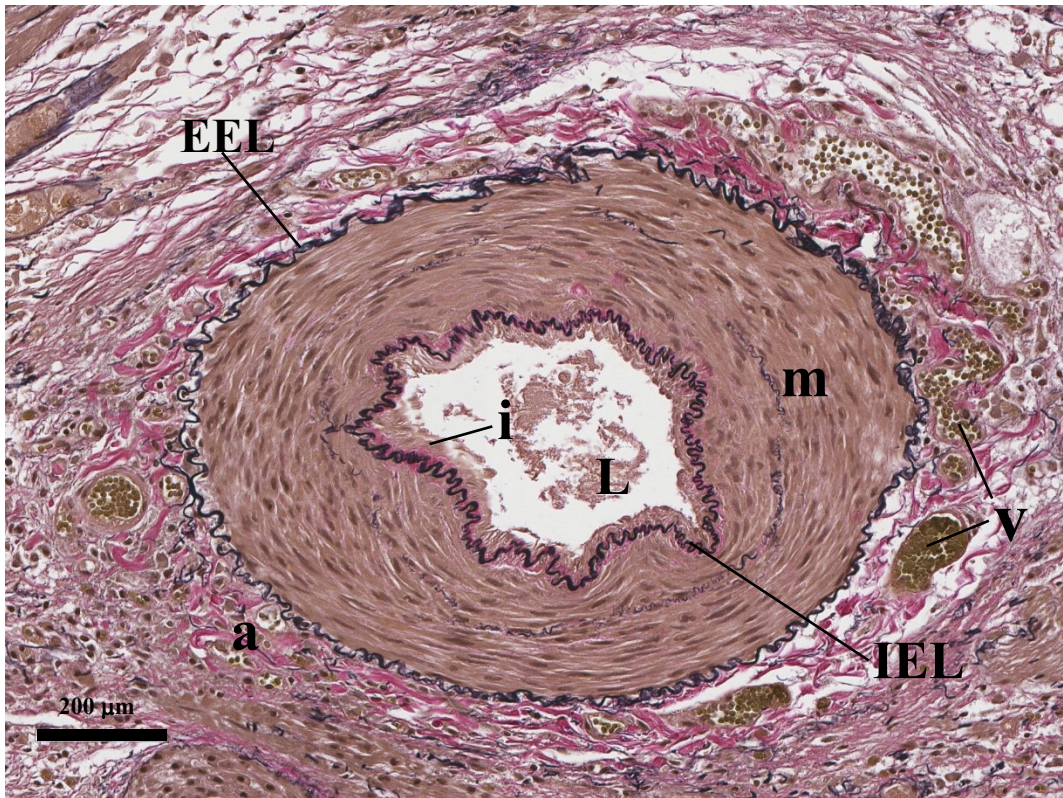
### 5.1 Colorations d'intérêts du projet

Plusieurs types de colorations histologiques existent afin de mettre des structures précises en relief. Les colorants peuvent être qualifiés de colorant acide ou basique, selon leur charge nette à un pH donné et leur affinité aux diverses composantes cellulaires (Banks, 1981). Les colorants acidophiles ont une charge nette négative qui neutralise la charge positive des composantes cellulaires basiques. Cette relation est inversée pour les colorants basiques qui interagissent avec les composantes cellulaires acides. Cette différence d'affinité permet la visualisation et la différenciation des structures cellulaires en procurant un contraste entre celles-ci. De façon générale, le nombre de structures cellulaires qui sont basophiles est limité comparativement à celui des structures acidophiles. Ce principe s'ajoute à celui des colorations spécifiques à certains tissus qui, en fonction de l'affinité des tissus à certains colorants (ex. ferriques), permettent de mettre en relief certaines composantes spécifiques (ex. collagène, élastine, etc.). Dans le cadre de ce projet, trois colorations différentes seront utilisées afin d'aider l'identification des différentes tuniques des artères et permettre leur mesure précise (Banks, 1981; Ross, 2006).

#### 5.1.1 Verhoeff-van Gieson (VVG)

Cette coloration est une combinaison de la coloration de Verhoeff et de la coloration de Van Gieson, dont un exemple est présenté à la Figure 20. La première est une coloration particulière d'hématoxyline ferrique qui colore les fibres élastiques en noir foncé. Cette coloration a été développée en 1908 et est depuis utilisée pour mettre en relief les fibres d'élastine, qui sont entre autres retrouvées dans les membranes élastiques interne et externe de la paroi des artères (Bancroft and Layton, 2019). La seconde, établie en 1889, est une coloration spécifique pour le tissu conjonctif. Le collagène apparaît en rouge, les noyaux en bleu foncé et les globules rouges apparaissent en jaune. La combinaison de ces deux techniques est donc idéale pour l'identification des vaisseaux sanguins et de leurs tuniques (Young et al., 2013). Lors de ce projet, cette coloration sera utilisée pour l'identification des différents types d'artères (élastiques larges, musculaires et

artérioles) dans le tissu pulmonaire ainsi que la mesure précise de l'aire des différentes tuniques les composant.



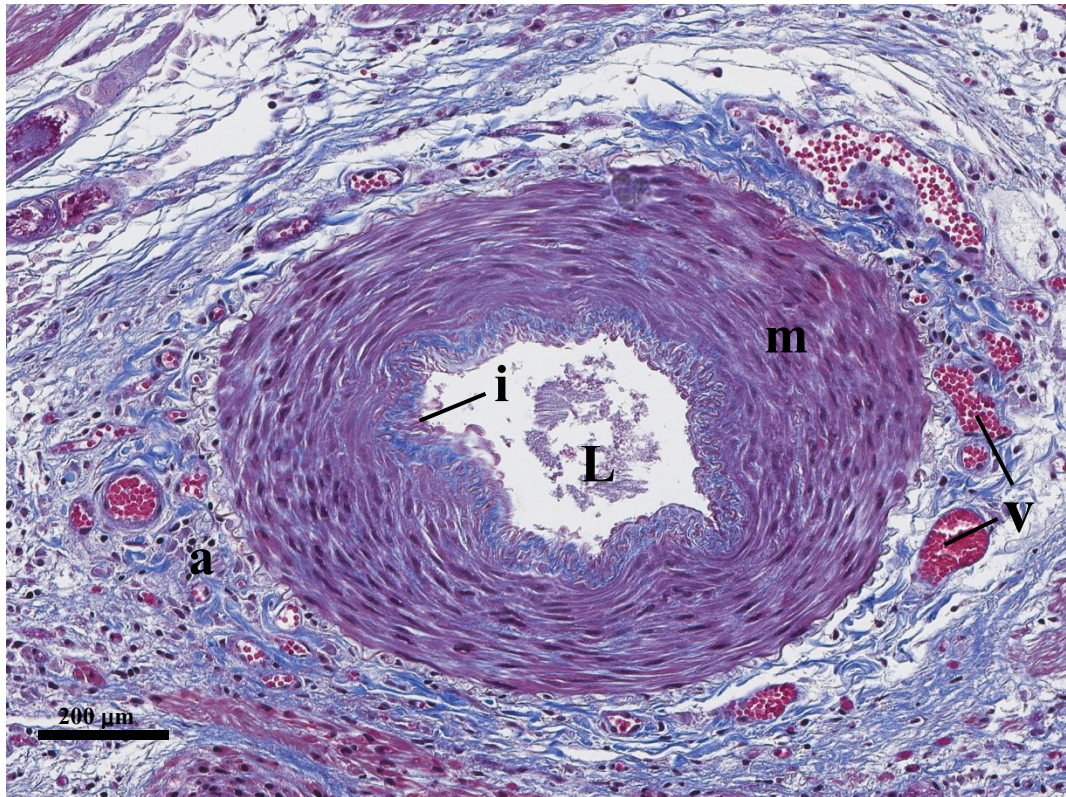
**Figure 20** – Exemple de coloration au Verhoeff-van Gieson d'une artère musculaire moyenne d'un chat atteint de désordres bronchiolaires.

*Exemple de coloration au Verhoeff-van Gieson d'une artère moyenne appartenant à un chat femelle stérilisée de 7 ans, atteinte de BD. On note la présence de l'intima (i), dont le contenu fibreux apparaît brunâtre. La média (m) est bien délimitée par les couches élastiques interne et externe de couleur noire. L'adventice (a) est colorée en rouge foncé permettant la distinction du parenchyme pulmonaire, qui semble à première vue normale. On y retrouve également la présence du vasa vasorum (v), donc les globules rouges qu'il contient sont teintés de jaune. L : lumière du vaisseau. (Young et al., 2013). - 200X, échelle 200 µm.*

### 5.1.2 Trichrome de Masson (TdM)

Cette coloration vise principalement à accentuer le collagène. Un exemple est présenté à la Figure 21. Elle est une adaptation de la technique de Van Gieson. Sa dénomination « trichrome » provient de l'utilisation de trois différents colorants pour obtenir la coloration finale. Le trichrome de Masson utilise la célestine hématoxyline bleue, l'acide fuchsine et le bleu de méthyle. Les noyaux

et les structures basophiles apparaissent bleu foncé à noir, le collagène apparaît bleu clair et le cytoplasme, les cellules musculaires et les globules rouges apparaissent rouge foncé à violet. Le contraste obtenu par cette coloration permet, entre autres, la distinction entre les cellules musculaires et le collagène. Lors de ce projet, cette coloration fut utilisée pour obtenir les mesures globales des artères, soit l'aire de la section transverse et le ratio paroi : lumière (Bancroft and Layton, 2019; Young et al., 2013).



**Figure 21** – Exemple de coloration au trichrome de Masson d'une artère musculaire moyenne d'un chat atteint de désordres bronchiolaires.

*Exemple de coloration au trichrome de Masson d'une artère moyenne appartenant à un chat femelle stérilisée de 7 ans, atteinte de BD. L'intima (i) se distingue à la couleur violacée du cytoplasme de ses cellules endothéliales. La média (m) est délimitée par les couches élastiques interne et externe, dont le contraste est limité, mais visible grâce aux fibres de collagènes bleu clair qui s'y rattachent. Le cytoplasme des myocytes est rouge à violet. L'adventice (a) est colorée en bleu clair, grâce à son contenu riche en collagène. On note aussi la présence du vasa vasorum (v) à la présence des globules rouge rouge foncé. (Young et al., 2013) - 200X, échelle 200 µm.*

## 5.2 Mesures histologiques

Les informations suivantes permettent d'expliquer le choix derrière les mesures effectuées, l'intégration des mesures dans les calculs et comment les artères ont été catégorisées pour permettre l'analyse des résultats.

### 5.2.1 Calibre des artères

Le calibre d'une artère consiste en la mesure du diamètre total du vaisseau, incluant la lumière et la paroi de part et d'autre de cette lumière. Lors de ce projet, nous nous sommes servies des données précédemment établies pour les artères pulmonaires des chats en fonction de l'ordre (section 1.1) d'apparition des subdivisions pour classer les artères pulmonaires en 3 catégories (Yen et al., 1984).

La première catégorie comprend les artères appartenant aux ordres  $\geq 9$  et dont le calibre est supérieur à 1000  $\mu\text{m}$ . Ces artères présentent des fibres d'élastine dans leur média leur conférant l'appellation « d'artères élastiques larges ». La deuxième catégorie regroupe les artères dont le calibre se situe entre 999  $\mu\text{m}$  et 301  $\mu\text{m}$ , correspondant aux ordres de 6 à 8 inclusivement. Ces artères possèdent une membrane élastique interne proéminente et sont qualifiées d'artères musculaires moyennes. La troisième catégorie inclut les petites artères musculaires dont le calibre se situe entre 300  $\mu\text{m}$  et 70  $\mu\text{m}$ , correspondant aux ordres 4 et 5, et présentant une membrane élastique interne (Rhodin, 1978; Yen et al., 1984).

### 5.2.2 Diamètre moyen de la lumière (MLD)

Le diamètre moyen de la lumière permet d'estimer la sévérité de l'occlusion des vaisseaux et servira dans le calcul de l'épaisseur moyenne de la paroi (MWT) ainsi que le ratio paroi-lumière discuté au paragraphe suivant. Le MLD est calculé à partir de la mesure de deux axes placés à 90 degrés, soit le plus grand profil luminal (GLA) et le diamètre externe (ED). La portion occupée par la lumière est ensuite mesurée et soustraite afin d'obtenir les valeurs de  $L_{\text{GLA}}$  et  $L_{\text{ED}}$ . Cette méthode commune dans la littérature a pour effet de limiter les biais que pourraient induire des plis dans la paroi ou des lésions de l'intima (Chazova et al., 1995; Hamilton, 1966b). Le calcul de cette mesure se fera comme suit :

$$\text{MLD} = L_{\text{GLA}} + L_{\text{ED}}/2$$

### 5.2.3 Épaisseur moyenne de la paroi (MWT)

Des données précises concernant l'épaisseur de la paroi des artères pulmonaires chez le chat ne sont pas disponibles dans la littérature. Chez l'humain, plusieurs variations sont notées entre les différentes sources, possiblement le résultat d'une capacité des artères de se contracter et à la méthode utilisée pour récolter les tissus (fixation, cryogénéisation, paraffine, etc.) (Chazova et al., 1995; Ross, 2006). Ce paramètre, déterminé à partir des mêmes axes tracés pour la mesure du diamètre de la lumière, sera calculé de la façon suivante (Hamilton, 1966b) :

$$\text{MWT} = (\text{GLA} - \text{L}_{\text{GLA}}) + (\text{ED} - \text{L}_{\text{ED}})/4$$

Ce résultat permettra le calcul du ratio paroi-lumière décrit au paragraphe suivant.

### 5.2.4 Ratio paroi : lumière (RWL)

Cette mesure, utilisée depuis le début du siècle, sert à évaluer la sévérité des lésions de remodelage vasculaire artérielle chez le chat. Cependant, la valeur devant servir de référence dans des conditions normales en fonction du type d'artère pulmonaire (élastique vs musculaire petite ou moyenne vs artériole) n'est pas clairement définie chez le chat. Plusieurs auteurs s'entendent sur un ratio entre 0,17 et 0,19 devant être considéré comme normal, tandis qu'un ratio supérieur à 0,35 est anormal. Cependant, aucune précision sur le type d'artère pulmonaire mesurée n'est disponible (Hamilton, 1966b; Olcott et al., 1946).

### 5.2.5 Aire de la section transverse

Cette donnée nous permet de déterminer la proportion du vaisseau occupé par la paroi et par la lumière. Comparativement à la mesure du ratio paroi : lumière, cette mesure permet d'englober la paroi de l'artère dans son ensemble. Par exemple, la présence de lésions excentriques pourrait ne pas être mesurée par le RWL, mais sera incluse dans la mesure de l'aire de la paroi. Cette mesure permet donc l'incorporation de telles lésions dans son analyse. Cette approche a récemment été utilisée dans l'étude des vaisseaux chez le chat (Browne et al., 2005). Ici, ce sont des mesures d'aire et non de longueur qui sont utilisées. Les valeurs d'aire de la section transverse de la paroi de l'artère seront obtenues pour chacune des catégories de vaisseau via ce calcul et exprimées en pourcentage :

Aire totale du vaisseau– Aire de la lumière = Aire de la paroi

Aire de la paroi/Aire totale du vaisseau x 100 = % aire de la section transverse de la paroi de l'artère

L'aire occupée par chaque tunique de la paroi des artères sera également déterminée en utilisant un calcul semblable en substituant l'aire de la paroi à l'aire de la tunique en question. Les repères utilisés pour délimiter chacune des tuniques sont décrits au Tableau 1.

<b>Tuniques</b>	<b>Repères histologiques</b>
<b>Intima (TI)</b>	Région allant de la marge luminale des cellules endothéliales jusqu'à la limite abluminale de la couche élastique interne.
<b>Média (TM)</b>	Région allant du bord externe de la couche élastique interne jusqu'au bord abluminal de la couche élastique externe.
<b>Adventice (TA)</b>	De la surface externe de la couche élastique externe jusqu'au bord abluminal de la couche de tissus conjonctifs comprenant le vaisseau (incluant le <i>vasa vasorum</i> ).

**Tableau 1** – Repères histologiques utilisés pour la délimitation des différentes tuniques des artères pulmonaires.

*Ces repères sont inspirés de ceux utilisés par Chazova et Stacher afin de délimiter les différentes tuniques composant la paroi des artères pulmonaires (Chazova et al., 1995; Stacher et al., 2012).*

## Objectifs

L'objectif général de ce projet de maîtrise vise à explorer les changements hémodynamiques et histologiques pulmonaires chez les chats atteints de maladies respiratoires pulmonaires. Ce projet aidera à déterminer si, comme chez l'humain, des modifications des paramètres hémodynamiques sont détectées lors de maladies pulmonaires chez le chat. De plus, une analyse histomorphométrique des artères pulmonaires chez des chats atteints de désordres bronchiolaires permettra de documenter la réponse des vaisseaux face à une atteinte des bronchioles, ce qui, à la connaissance des auteurs, n'a jamais été fait auparavant chez le chat. Ce projet, cumulant des données sur deux fronts et sur deux cohortes différentes de chats, pourrait contribuer à faire le lien entre les paramètres qui peuvent être mesurés de façon non invasive par échocardiographie et les changements structuraux qui surviennent microscopiquement et qui sont le plus souvent obtenus de façon terminale chez le chat.

L'objectif de la première partie de ce projet est de mesurer de façon non invasive 20 paramètres échocardiographiques qui permettront de mieux caractériser l'hémodynamie pulmonaire et appuyer ou non, la présence d'hypertension pulmonaire chez des chats atteints de maladies respiratoires inférieures spontanées chroniques.

Pour atteindre ce premier objectif, nous nous sommes inspirés d'une nouvelle méthode d'estimation de la pression artérielle pulmonaire (PAP) validée chez le chien. En complément à la vitesse du pic de régurgitation tricuspидienne servant à estimer la pression artérielle pulmonaire systolique (sPAP), nous avons voulu déterminer si les temps d'intervalles systoliques pouvaient également prédire la sPAP chez le chat. Cette méthode représente une alternative intéressante aux estimations actuelles, mais elle n'a pas été testée chez les chats atteints de conditions respiratoires spontanées chroniques à ce jour. Les objectifs de cette première partie sont a) de déterminer la faisabilité de l'utilisation des temps d'intervalles systoliques pour évaluer les changements au niveau de l'hémodynamie pulmonaire chez un groupe de chats atteints de maladies respiratoires chroniques spontanées en déterminant le degré de corrélation avec les valeurs estimées de la PAP, du pic de vitesse de régurgitation tricuspидienne et pulmonaire, b) de déterminer si la fréquence cardiaque, l'âge, le poids et le sexe influencent les valeurs d'AT et ET et c) de déterminer si les données échocardiographiques récoltées chez les chats atteints de maladies respiratoires chroniques sont différentes de celles obtenues d'un groupe de chats sains.

La seconde partie consiste en une documentation histomorphométrique axée sur le PAR sur des tissus pulmonaires obtenus chez une autre cohorte de chats, cette fois atteints de désordres bronchiolaires. Les objectifs spécifiques de cette partie visent à mesurer le ratio paroi : lumière, l'aire transverse de la paroi et la fraction de la paroi occupée par chaque tunique pour déterminer si le PAR est plus sévère chez les chats atteints de BD comparativement à un groupe de chats contrôlés.

Ces études nous permettront de mieux documenter l'impact de maladies respiratoires sur la circulation sanguine pulmonaire du chat. Les résultats de ces études pourraient influencer l'approche diagnostique des maladies respiratoires chez le chat et procurer des informations quant à des cibles potentielles pour le traitement. Les résultats de notre étude pourront également servir de comparaison pour d'autres espèces, notamment le chien et l'humain, chez qui les affections respiratoires entraînent des changements vasculaires pulmonaires importants menaçant leur vie.



# **Chapitre 2 – Exposé et analyses des résultats : Echocardiographic systolic time intervals in 10 cats with spontaneous respiratory diseases**

## **1 – Énoncé des rôles des auteurs**

La réalisation de ce premier article cité ci-haut a nécessité le travail de 4 auteurs. J'ai été responsable du rayonnement et de la coordination du recrutement des chats expérimentaux, de la prise de données échocardiographiques pour le groupe expérimental avec Dre Bérénice Conversy, de l'analyse statistique des données recueillies et de la rédaction de l'article, sous la supervision des Dres Conversy et Masseau. Les examens physiques, sériques, coprologiques, radiographiques et échocardiographiques des chats inclus dans cette étude ont été réalisés par les Dres Conversy et Masseau. Dr Pavard a recruté les chats du groupe contrôle et participé à la récolte de données chez ceux-ci. Le présent article est actuellement en ronde finale de préparation pour soumission au *Canadian Veterinary Journal* et est rédigé en anglais.

## **2 – Abstract**

Respiratory diseases can induce pulmonary hemodynamic changes, such as pulmonary hypertension (PH) in humans. Echocardiographic systolic time intervals (STIs) could provide interesting indices of pulmonary hemodynamics in cats for which systolic pulmonary arterial pressure (sPAP) cannot be estimated with the evaluation of tricuspid regurgitation (TR) velocity jet. The objectives were to determine the feasibility of measuring STIs in cats with or without spontaneous respiratory disease and their correlation with estimated sPAP, pulmonary regurgitation (PR) peak velocity or TR, and the influence of clinical parameters on STIs. Cats with spontaneous respiratory diseases formed the experimental group (n=10). Healthy cats were recruited in the control group (n=16). A total of 20 echocardiographic parameters were measured, including acceleration time (AT), ejection time (ET) and AT:ET ratio, and compared between groups. STIs values of each group were correlated to sPAP, TR and PR. Linear models were used to assess the impact of heart rate and demographic parameters such as age, body weight and sex on echocardiographic parameters. No significant differences were noted between groups for any echocardiographic parameter. AT, ET and AT:ET were not correlated to either sPAP, TR or PR ( $P>0,05$ ). Demographic data did not impact STIs values. One cat with elevated TR velocity jet did

not have STIs values lower than those of the control group. Although STIs are easily measurable echocardiographically in cats and they are not influenced by demographic or stress factors, their use as an alternative for unmeasurable TR in cats with spontaneous respiratory disease remains to be demonstrated.

### **3 – Introduction**

Chronic obstructive airway disorders and primary pulmonary parenchymal disease can lead to the development of group 3 pulmonary hypertension (PH) in dogs and humans, an abnormal hemodynamic state characterized by the increased pressure within the pulmonary vasculature (Reinero et al., 2020). Intraluminal growth mediated-airway obstruction (Tasker et al., 1999; Taylor et al., 2009), lung parenchymal disorders including interstitial lung diseases (Reinero, 2019a, b) and asthma (Davis et al., 2013) are reported in cats, the latter rather frequently. However, reports of cats developing PH associated with respiratory diseases are very sparse and consisted of one having hypoxemia due to a nasopharyngeal polyp (MacPhail et al., 2007b) and 3 with interstitial pulmonary fibrosis (Evola et al., 2014). It is uncertain whether the paucity in the literature describing cats with PH associated with respiratory diseases result from a lower susceptibility in this species, a lack of screening for PH, a lack of an efficient indirect method to detect PH in this species, or a combination of them. As right heart catheterization, the gold standard for determination of PH, is invasive and cost prohibiting, the determination of PH in clinical settings relies heavily on echocardiography and clinical findings. With doppler echocardiography, the systolic pulmonary arterial pressure (PAPs) is estimated using the tricuspid regurgitation peak velocity jet (TR). However, TR is absent or unmeasurable in 35% of healthy cats (Adin et al. 2005), frequently preventing the assessment of sPAP. In dogs with idiopathic interstitial pulmonary disease, the systolic time intervals (STIs) including the acceleration time (AT), the ejection time (ET) and the acceleration time index (AT:ET) of the pulmonary flow, measured by Doppler echocardiography at the level of the pulmonary valves, have shown good sensitivity and specificity to predict PH (Schober and Baade, 2006). The STIs are independent of the presence of a TR, and thus could provide interesting indices of pulmonary hemodynamics in cats for which systolic PAP cannot be estimated with the evaluation of TR.

The objectives of this study were to determine a) the feasibility of measuring STIs in cats with or without spontaneous respiratory disease and their correlation with estimated systolic PAP, PR peak

velocity or TR, in both groups of cats and b) the influence of feline clinical parameters on STIs in cats. We hypothesized that STIs would be easily measurable in all cats and well correlated with TR and pulmonary regurgitation (PR) peak flow velocities, and that cats with chronic lower respiratory disease would have reduced AT and AT:ET compared to healthy cats. We do not expect an influence of demographic and clinical parameters on STIs.

## **4 – Materials and methods**

A prospective observational case control study was conducted at the University of Montreal from 2018 to 2020 with the approval of Université de Montréal Animal Care and Use Committee (CEUA # 17-Rech-1902). Informed client consent was mandatory for participation in the study.

### **4.1 Experimental group**

Cats admitted to our institution for a suspected respiratory disease based on compatible clinical signs were recruited. Cats included in the experimental group had an history of chronic respiratory disease ( $\geq 1$  month) and/or clinical signs of respiratory disease including, but not limited to, coughing, wheezing, open mouth breathing, tachypnea ( $>40$  bpm), expiratory efforts, indrawing, and respiratory distress.

Following enrollment, each cat underwent a physical examination, measure of the systemic arterial pressure using a PetMAP® device according to the ACVIM recommendations (Acierno et al., 2018), a complete blood count (CBC), a biochemistry analysis including total thyroxine level, heartworm antibody dosage, three-view thoracic radiography and echocardiography with the cat gently placed in lateral recumbency (Vivid-7 ultrasound system, GE Medical, Wauwatosa, WI). Feces were provided by owners or directly collected on site from litter boxes and submitted for a Baermann coprology. Cats with significant changes in CBC and biochemistry results, or with positive results at Baermann coprology or anti-dirofilariasis serology were excluded from the study.

### **4.2 Control group**

The control group included cats from the teaching colony of the Université de Montréal and cats belonging to students and staff. To be included in the control group, cats must have had no history of cardiac or respiratory diseases or comorbidities (e.g. diabetes, renal disease, hyperthyroidism),

live in a smoke-free household, show no abnormality on physical examination especially no cardiac or respiratory signs (i.e. tachypnea at rest, syncope, respiratory noises, respiratory distress at rest, heart murmur, right-sided heart failure, increased respiratory effort at rest, cyanotic or pale mucous membranes), and had to be cooperative as sedation was not used for complementary exams in order to avoid its influence on our results (Pypendop et al., 2017). Cats were recruited if their systolic blood pressure was below 160 mm Hg, and all hematologic and biochemistry values were within reference range. Any of the following abnormalities, if present, alveolar pattern, pleural or pericardial effusion, pneumothorax, diaphragmatic hernia, thoracic mass, or nodule, moderate or severe unstructured interstitial pattern, moderate or severe bronchial pattern, pericardiac effusion, signs related, but not limited to, hypertrophic cardiomyopathy, valvular diseases, congenital defects (PDA) resulted in exclusion from the study.

### **4.3 Echocardiographic evaluation and measurements**

Echocardiography was performed in right and then left lateral recumbency using 2-D, M-mode and spectral color-flow Doppler evaluation (Vivid-7 ultrasound system, GE Medical, Wauwatosa, WI), with a 10 MHz transducer probe and direct electrocardiogram tracing. Echocardiography was performed by a single investigator [B.C.], who is an ACVIM small animal internal medicine specialist with 9 years of experience in echocardiography. The echocardiographic parameters of interest were classified according to the anatomical sites proposed by the ACVIM consensus for PH in dogs (Reinero et al., 2020).

#### **4.3.1 Right ventricle**

Left apical cranial view was used to assess valves morphology and right ventricle diameter (RV) during systole (RVds) and diastole (RVdd). Shortening fraction percentage of the right ventricle (FR%RV) was calculated using the equation:  $FR\%RV: (RVdd - RVds) / RVdd \times 100$ .

#### **4.3.2 Pulmonary trunk**

Standardized right-sided parasternal short axis view was used to assess pulmonary trunk diameter (PTD) at the beginning of the systole on a 2-D image, pulmonary flow profiles and systolic time intervals (STIs) on a pulsed Doppler pulmonary flow signal image. Pulmonary profiles were evaluated subjectively and classified as previously described (Rhinehart et al., 2017): Type 1 was considered normal, type 2 accelerated and type 3 with a mid-systolic notching. STIs comprising

the acceleration time (AT), ejection time (ET) of the pulmonary flow and their ratio (AT : ET) were determined as previously described in dogs (Brown et al., 1991; Kirberger et al., 1992). Briefly, the AT (ms) was measured from the onset of detection of the pulmonary flow signal to peak flow velocity, whereas ET (ms) encompassed the time period between the onset of detection and end of the pulmonary flow signal (Figure 7). Measurements were repeated on 3 separate images using pulsed Doppler, and then averaged. Pulmonary artery velocity time integral (PAVTI), corresponding to the estimated volume of blood circulating through the pulmonary valve, was obtained by tracing the pulmonary flow profile to calculate the area under the curve (Figure 7). Heart rate was determined using ECG tracing.

#### 4.3.3 Right atrium and cranial vena cava

Maximal diameter of right atrium (RA) was obtained from an end systolic cranial left apical view, from the oval fossa to the lateral blood-tissue interface of the RA wall. Cranial vena cava maximum and minimum diameters (VCCr max, VCCr min) were obtained from a right parasternal tilted heart base view (Rhinehart et al., 2017). Cranial vena cava collapsibility (Co VCCr) was estimated with the following equation:

$$\text{VCCr max} - \text{VCCr min} / \text{VCCr max} \times 100$$

#### 4.3.4 Other parameters

Maximal tricuspid regurgitation (TR max) velocity (m/s) were evaluated from the left apical 2-chamber view using continuous wave Doppler. The aortic peak velocity jet (VA) and the diameter of the aorta (AoD) were obtained using left-side parasternal tilted heart base view, and left atrium diameter to aorta diameter ratio (LA:Ao) using a standardized right-side parasternal heart base view. The systolic PAP was calculated using the simplified Bernoulli equation:

$$\text{sPAP} = 4 \times (\text{TR})^2 + \text{RAP}$$

The gradient between the right ventricle and atrium (RAP) was estimated at 5 mm Hg when the subjective assessment of right atrium size was normal or at 10 mm Hg if increased (Rhinehart et al., 2017). Pulmonary vascular resistance (PVR) was estimated using the following equation: PVR = sPAP/PAVTI (Rhinehart et al., 2017).

#### **4.4 Statistical analysis**

Descriptive statistics were carried out for all demographics, measured, and calculated parameters and results are reported as median and interquartile range. Normality and equality of variance for all parameters were assessed using Shapiro-Wilk test and Levene test, respectively. The association between STIs and TR peak velocity, PR peak velocity or systolic PAP were evaluated with a Spearman correlation test considering the non-normal distribution of data. A linear model was used to evaluate the effect of group, weight, age, sex, and heart rate on STIs values (AT, ET, AT: ET). To evaluate whether AT, ET and AT:ET values were lower in the experimental group compared to the control group, a unilateral non-parametric Wilcoxon test was performed. The level of significance was set at 0,05. Bilateral non-parametric Wilcoxon test assessed differences between the two groups for all other demographic, clinical and echocardiographic parameters and HR. Considering the large number of variables, the Bonferroni correction was applied to avoid any type 1 error (false positive). For this specific test, results were considered significant if  $P \leq 0,002$ .

### **5 – Results**

#### **5.1 Demographics and clinical findings**

Ten client-owned cats were enrolled in the experimental group. Detailed demographic data are shown in Table 1. Median age and body weight was 6 years (IQR: 2,5 – 12,5 years) and 5,05 kilograms (IQR: 4,00 – 5,75 kg).

The reason of presentation, medication received at the time of enrolment and prior health history for all experimental cats included are shown in Table 2. Findings at clinical examination (physical exam, CBC, biochemistry profiles, thoracic radiographies) for all experimental cats are also available in Table 2. Heart rate (HR) was deemed normal in all experimental cats, with a median of 201 (IQR: 178 - -209). All cats were seronegative to *Dirofilarias immitis* and to fecal coprology examinations.

Fourteen out of 16 healthy cats included in the control group were from a teaching colony and 2 were staff owned. Detailed demographic data are available in table 1. Median age and body weight was 6 years (IQR: 3 – 8 years) and 3,84 kg (IQR: 3,22 – 4,70 kg), respectively. No abnormal clinical findings were noted for every cat enrolled in the control group (n=16). Median HR was 179 bpm (IQR: 108 – 204 bpm). All cats were negative for *D. immitis* antibody assay and for fecal parasites. Cats from the experimental group were not significantly heavier (P>0,002) following the Bonferroni correction applied. No differences between groups were found for heart rate (P=0,08) and sex ratio (P=0,37).

<b>Cat#</b>	<b>Sex (M, F)</b>	<b>Age (y)</b>	<b>Weight (kg)</b>	<b>Race</b>
<b>Experimental group</b>				
1	F	12,5	4,66	Domestic
2	F	14	5,00	Domestic
3	F*	6,0	4,00	Domestic
4	F	3,5	5,10	Domestic
5	F	12,0	5,51	Bengal
6	M	2,5	6,70	Domestic
7	M	4,0	7,51	Domestic
8	F	14,0	5,75	Domestic
9	M	5,5	4,81	Siberian
10	M	4,5	4,92	Domestic
<b>Control group</b>				
1	F	3,5	3,80	Domestic
2	F	3,0	3,73	Domestic
3	F	3,0	3,29	Domestic
4	F	4,0	3,22	Domestic
5	F	3,5	3,87	Domestic
6	F	5,5	3,80	Domestic
7	M	8,5	3,96	Burmese
8	M	6,0	3,77	Domestic
9	F	5,0	4,00	Domestic
10	M	9,0	6,60	Domestic
11	F	7,5	8,00	Domestic
12	F	6,0	3,58	Domestic
13	M	4,0	6,57	Domestic
14	F	6,0	3,96	Domestic
15	F	12,5	5,40	Domestic
16	F	11,0	3,40	Domestic

**Table 1** – Demographic data for experimental and control cats included in the study.

*Cats' identification number, sex, age, weight, and race are shown. M : male. F : female. Y : years. Kg : kilograms. \*: Unspayed female.*

Cat #	Reason of presentation	Prior history	Medication	Physical exam anomalies	HR (bpm)	Hematology	Biochemistry profile	Thoracic radiography findings	Differentials
1	Coughing worsening	Diabetes, epilepsy, chronic coughing (> 1 month)	Prednisolone 5mg SID, Lantus, Levetiracetam	Increased bronchovesicular noises	180	WNL	GLU : 23.1 mmol/L (3.8 – 7.9 mmol/L)	Left cranial lobe atelectasis/consolidation, diffuse broncho-interstitial pattern of the right lung lobe	Asthma, chronic bronchitis, neoplasia
2	Suspected asthma follow-up	Chronic cough (>1 month)	Prednisolone 5 mg q48h, Ventolin PRN, Flovent SID Fenbendazole 50mg/kg SID x 14 days, Doxycycline 50mg SID x 3 weeks	Slight augmentation of bronchovesicular noises	220	WNL	WNL	Diffuse bronchial and peri-bronchial interstitial pattern, severe diffuse miliary pattern	Asthma, chronic bronchitis, neoplasia
3	Suspected asthma follow-up	Chronic cough (> 1 month)	Prednisolone and Flovent PRN	Heart murmur II/VI, slight Increased bronchovesicular sounds	200	WNL	WNL	Unstructured Primary diffuse interstitial pattern (both lungs)	Asthma, chronic bronchitis
4	Project outreach, chronic cough	Chronic cough (> 1 month)	-	Light tachypnea (40 rpm), increased bronchovesicular noises	224	WNL	Lipase DGGR : 29 U/L (0- 26 U/L)	Decreased visibility of caudal vena cava, Unstructured interstitial pattern (accessory lobe)	Asthma, chronic bronchitis
5	Project outreach, suspected asthma follow-up	Chronic cough (> 1 year)	Prednisolone 5mg SID	Heart murmur I/VI left sided, increased bronchovesicular sounds, small right thyroid nodule	181	WNL	Lipase DGGR : 66 U/L (0- 26 U/L)	Rounded cardiac silhouette, Diffuse bronchial pattern with unstructured interstitial component	Asthma, chronic bronchitis
6	Coughing	Coughing episodes (1 month)	-	WNL	178	WNL	WNL	Light diffuse bronchial pattern	Bronchopneumopathy of unknown etiology
7	Respiratory distress, anorexia	Chronic cough (4 years)	Furosemide 1mg/kg BID, Torbutrol 1 mg CO 1/2 co SID or BID	Heart murmur: II/VI, Tachypnea (> 40 rpm), right-sided increased bronchovesicular sounds,	202	Thrombocytopenia: $32 \times 10^9$ 9/L (156 – 626 $\times 10^9$ 9/L), nucleated RBC: 1.00/100 RBC (0 – 0 / 100 RBC)	ALT: 148 U/L (16 – 63 U/L) Lipase DGGR: 42 U/L (0- 26 U/L) CO2 total: 32.1 mmol/L (14 -24 mmol/L)	Consolidation/atelectasis of the left lung lobe, Unstructured interstitial pattern with diffuse bronchial component in both caudal lung lobes, tortuous vessels, enlarged left lobar artery, enlarged, and truncated right caudal lobar artery, rounding of cardiac silhouette	Pulmonary hypertension, pulmonary thrombosis, pulmonary edema,
8	Suspected asthma follow-up	Chronic cough (> 1 year)	Prednisolone 5 mg PRN	Left-sided slight thyroid slip	183	WNL	WNL	Diffuse mild bronchial pattern, mild to moderate cardiomegaly	Bronchopneumopathy of unknown etiology
9	Chronic cough	Chronic cough (3-4 years)	-	Bilateral increased bronchovesicular sounds	202	WNL	Lipase DGGR : 28 U/L (0- 26 U/L)	Multifocal lesions of small airways with interstitial pattern and focal bronchial pattern, multifocal bronchi enlargement	Allergic/inflammatory bronchopneumopathy
10	Coughing	Chronic cough (1 year)	-	Bilateral increased bronchovesicular sounds	209	WNL	Lipase DGGR : 29 U/L (0- 26 U/L)	Unstructured diffuse interstitial pattern with light diffuse bronchial pattern	Asthma, chronic bronchitis

**Table 2** –History, clinical findings, and differential diagnostics of included experimental cats.

*Cats' identification number, reason of presentation, prior clinical history and medication received at the time of recruitment are shown. Clinical findings at the physical exam as well as hematology, biochemistry profile, and thoracic radiography findings are described. Differential diagnostics based upon these findings are indicated. WNL: within normal limits. Bpm : beats per minute. SID : once a day. BID: twice a day. PRN : as needed. RBC : red blood cells*



## **5.2 Radiographic Diagnoses**

Presumptive diagnoses based on clinical history, physical examination findings and diagnostics of experimental cats are presented in Table 2. One experimental cat (#7) was euthanized due to the severity of clinical signs and poor prognosis. Owners consented to post-mortem examination. This cat received a diagnosis of a primary bronchiolar disorder with secondary pulmonary fibrosis on histopathologic examination by an ACVP specialist in pathology [K.W., see 9 – Acknowledgment].

## **5.3 Echocardiography**

All echocardiographic parameters, except for TR peak velocity jet, were evaluated in all cats. TR peak velocity jet was only measurable in 12/16 (75%) of control cat and 10/10 (100 %) of experimental cats (Table 2). One cat from the experimental group (# 7; Table 3) showed a TR velocity of 4,3 m/s while all others were below 2,1 m/s. This cat had severe echocardiographic right atrial dilation and a type 2 pulmonary profile. Median (IQR) and P values for echocardiographic parameters from the control and experimental groups are presented in Table 3.

Cat #	TR (m/s)	PR (m/s)	AT (ms)	ET (ms)	AT :ET	sPAP (mmHg)	PVR (mmHg/min)	VA (m/s)	FR% RV	RVDd (mm)	RVDs (mm)	RA max (mm)	VCCr max (mm)	VCCr min (mm)	Co VCCr (%)	PAVTI	PTD (mm)	AoD (mm)	LA : Ao	Pu Profile
<b>Control group</b>																				
1	1,73	0,99	46,21	170,06	0,27	17,02	1,72	0,58	32	8,9	6,1	15,0	7,0	4,5	35	9,87	6,4	8,5	1,3	I
2	0,62	0,47	64,08	141,71	0,45	6,54	1,47	0,46	29	8,0	5,7	14,3	6,0	3,6	40	4,44	9,9	10,1	1,2	I
3	0,66	0,70	35,12	127,54	0,28	6,72	0,99	0,95	35	7,6	4,9	9,4	4,5	2,6	41	6,76	7,7	9,5	1,2	I
4	0,93	1,32	50,83	135,86	0,37	8,46	0,89	1,14	38	7,4	4,6	13,9	4,9	3,0	38	9,48	8,0	8,9	1,2	I
5	1,02	9,16	56,38	134,01	0,42	9,16	0,92	0,91	40	6,9	4,1	13,0	6,8	4,2	38	9,94	7,2	8,8	1,0	I
6	0,89	1,05	45,59	144,18	0,32	8,17	1,05	0,85	43	7,0	4,0	11,8	5,0	3,4	32	7,78	8,8	8,9	1,2	I
7	1,14	0,94	30,19	157,12	0,19	10,23	1,02	0,90	46	6,3	3,3	8,9	5,9	3,5	40	10,01	7,5	7,4	1,3	I
8	N/D	0,97	41,72	149,72	0,28	N/D	N/D	1,09	41	6,6	3,9	11,1	7,1	3,8	47	10,03	7,4	8,3	1,3	I
9	1,18	0,79	65,62	142,33	0,46	10,54	1,30	0,74	46	9,6	5,2	12,4	6,7	3,8	44	8,12	10,2	11,2	1,1	I
10	N/D	0,87	67,78	192,24	0,35	N/D	N/D	0,77	45	8,4	4,7	11,5	6,2	3,2	49	10,36	9,2	8,4	1,3	I
11	N/D	0,64	40,67	120,15	0,34	N/D	N/D	0,96	30	7,1	4,9	13,9	6,8	3,5	48	7,34	8,6	9,3	1,2	I
12	0,60	1,07	79,48	195,93	0,41	9,55	1,27	1,30	42	12,5	7,3	15,4	6,9	4,6	33	7,55	7,8	10,6	1,3	I
13	1,03	0,79	76,40	178,68	0,43	9,22	0,91	0,81	29	8,7	6,2	14,7	7,7	5,0	35	10,16	9,1	9,6	1,2	I
14	N/D	0,86	52,65	140,19	0,38	N/D	N/D	0,59	35	6,6	4,3	14,3	5,3	3,6	32	8,87	8,2	8,5	1,4	I
15	2,09	0,80	55,19	133,21	0,41	22,47	3,22	0,54	45	7,5	4,1	13,0	5,0	3,6	27	6,98	7,4	10,1	1,3	I
16	1,47	1,16	71,68	142,72	0,50	13,64	1,37	1,20	66	7,2	2,5	13,7	4,9	3,3	32	9,97	6,9	9,7	1,2	I
<b>Experimental group</b>																				
1	0,91	0,89	27,11	154,03	0,18	8,29	0,93	0,81	41	10,8	6,1	14,4	5,8	4,1	30	8,91	8,4	10,8	1,1	I
2	0,57	0,87	76,40	161,43	0,47	6,30	0,63	0,98	48	9,4	6,5	14,5	N/D	N/D	N/D	10,01	9,7	9,5	1,3	I
3	1,39	0,97	43,13	130,62	0,33	12,77	1,39	0,70	55	6,5	4,1	10,5	4,8	3,3	31	9,19	7,7	9,5	1,3	I
4	1,13	0,61	86,26	150,34	0,58	10,11	1,68	0,75	38	13,2	8,2	13,6	6,9	5,0	27	6,03	7,7	8,6	1,3	I
5	1,48	0,97	45,04	107,20	0,42	13,80	2,26	0,75	51	9,9	4,8	14,7	6,5	4,6	29	6,01	9,4	10,3	1,4	II
6	0,80	0,98	60,89	159,21	0,38	7,56	0,77	0,92	37	8,5	5,4	13,3	5,1	3,2	38	7,68	8,6	9,6	1,3	I
7	4,30	0,76	46,94	132,57	0,35	79,07	11,13	1,57	42	10,3	6,0	20,9	7,0	3,7	47	7,10	10,4	10,0	1,3	II
8	1,04	0,88	73,58	162,39	0,43	9,35	0,94	0,82	48	7,0	3,6	13,5	4,6	3,0	36	9,98	9,7	10,2	1,3	I
9	0,97	0,98	58,36	145,26	0,40	8,76	0,89	0,81	65	8,7	3,1	14,0	5,1	3,1	40	9,81	9,0	10,0	1,1	I
10	1,19	1,06	61,53	116,71	0,54	10,63	1,15	1,31	57	10,2	4,4	17,4	6,5	5,3	18	9,26	7,6	10,3	1,2	I

**Table 3** – Individual echocardiographic parameter values of control and experimental cats obtained for the assessment of pulmonary circulation hemodynamics.

*Data obtained during echocardiography and estimated for all control (n=16) and experimental (n=10) cats are shown. TR : tricuspid regurgitation peak velocity jet. PR : pulmonary regurgitation peak velocity jet. AT : acceleration time of the systolic time interval (STIs). ET : ejection time of the STIs. AT:ET : acceleration time and ejection time ratio. sPAP : systolic pulmonary arterial pressure. PVR : pulmonary vascular resistance. VA : aortic peak velocity jet. FR%RV: shortening fraction percentage of the right ventricle. RVDs : right ventricle diameter in systole. RVDd : right ventricle diameter in diastole. RA max : maximal diameter of right atrium. VCCr max : cranial vena cava maximum diameters. VCCr min : cranial vena cava minimum diameter. Co VCCr : cranial vena cava collapsibility. PAVTI : pulmonary artery velocity time integral. PTD : pulmonary trunk diameter. AoD : diameter of the aorta. LA : Ao : left atrium diameter to aorta diameter ratio. Pu profile : pulmonary profile types. N/ D : non-available data.*

Parameters	Control (n=16)	Experimental (n=10)	P values
<i>Right ventricle</i>			
<b>RVds (mm)</b>	4,62 (2,47 – 5,43)	5,08 (3,07 – 6,07)	0,48
<b>RVdd (mm)</b>	7,41 (6,25 – 8,57)	9,63 (6,50 – 10,33)	0,04
<b>FR % RV (%)</b>	40 (29 – 45)	48 (37 – 55)	0,03
<i>Pulmonary trunk</i>			
<b>PTD (mm)</b>	7,93 (6,41 – 8,97)	8,80 (7,60 – 9,65)	0,12
<b>PR max (m/s)</b>	0,85 (0,47 – 0,98)	0,89 (0,61 – 0,97)	0,74
<b>AT (ms)</b>	53,92 (30,19 – 66,7)	59,63 (27,22 – 73,58)	0,33
<b>ET (ms)</b>	142,50 (120,15 – 163,59)	147,80 (107,19 – 159,21)	0,35
<b>AT : ET</b>	0,37 (0,19 – 0,43)	0,41 (0,18 – 0,47)	0,13
<b>PAVTI</b>	9,18 (4,44 – 9,99)	9,05 (6,03 – 9,81)	0,53
<i>RA and Vena cava</i>			
<b>RAd max (mm)</b>	13,37 (8,86 – 14,26)	14,18 (10,53 – 14,70)	0,15
<b>VCCr max (mm)</b>	6,11 (4,51 – 6,87)	5,83 (4,63 – 6,50)	0,60
<b>VCCr min (mm)</b>	3,63 (2,64 – 3,99)	3,73 (2,97 – 4,57)	0,84
<i>Other parameters</i>			
<b>TR max (m/s) †</b>	1,05 (0,62 – 1,32)	1,09 (0,57 – 1,39)	0,92
<b>Co VCCr (%)</b>	38 (27 – 43)	31 (18 – 38)	0,10
<b>AoD (mm)</b>	9,07 (7,43 – 9,90)	10,01 (8,60 – 10,27)	0,06
<b>LA : Ao</b>	1,24 (0,99 - -1,29)	1,30 (1,13 – 1,34)	0,15
<b>VA (m/s)</b>	0,88 (0,46 – 1,02)	0,82 (0,70 – 0,98)	0,71
<b>sPAP (mm Hg) †</b>	9,38 (6,54 – 12,09)	9,73 (6,30 – 12,77)	0,92
<b>PVR (mm Hg/min) †</b>	1,16 (0,89 – 1,42)	1,07 (0,63 – 1,68)	0,92
<b>HR (bpm)</b>	178 (108 – 203)	201 (178 - -209)	0,08

**Table 4** – Echocardiographic parameters (median and IQR) obtained in normal cats and cats with chronic pulmonary disease following ACVIM -described anatomical sites (Reinero et al., 2020).

Results are expressed by median (IQR). †: statistical analysis done using  $N = 12$  for the control group, as TR was not obtained for all control cats and thus these values could not be calculated for all patients. Results are significant if  $P \leq 0,002$  (Bonferroni correction) for all parameters except for AT, ET and AT:ET, where  $P \leq 0,05$  is deemed as significant. TR : tricuspid regurgitation peak velocity jet. PR : pulmonary regurgitation peak velocity jet. AT : acceleration time of the systolic time interval (STI). ET : ejection time of the STI. AT:ET : acceleration time and ejection time ratio. sPAP : systolic pulmonary arterial pressure. PVR : pulmonary vascular resistance. VA : aortic peak velocity jet. FR%RV: Shortening fraction percentage of the right ventricle. RVds : right ventricle diameter during systole. RVdd : right ventricle diameter during diastole. RA max : maximal diameter of right atrium. VCCr max : cranial vena cava maximum diameters. Vccr min : cranial vena cava minimum diameter. Co VCCr : Cranial vena cava collapsibility. PAVTI : pulmonary artery velocity time integral. PTd : pulmonary trunk diameter. AoD : diameter of the aorta. LA:Ao : left atrium diameter to aorta diameter ratio. Pu profile : pulmonary profile types. HR : Heart rate.

All the cats in the study had a type 1 pulmonary profile except 2 from the experimental group that had type 2 pulmonary profiles.

No significant differences were identified between groups for any of echocardiographic parameters (Table 4). No significant correlation was established between STIs values and systolic PAP, PR max or TR for both groups ( $P > 0,05$ ).

Linear models did not show any significant effect of groups, body weight, age, sex or HR on AT ( $P = 0,67$ ,  $P = 0,91$ ,  $P = 0,81$ ,  $P = 0,67$  and  $P = 0,45$ , respectively), ET ( $P = 0,48$ ,  $P = 0,86$ ,  $P = 0,28$ ,  $P = 0,34$  and  $P = 0,13$ ) and AT:ET ( $P = 0,41$ ,  $P = 0,91$ ,  $P = 0,73$ ,  $P = 0,91$  and  $P = 0,91$ ) values.

Overall, only one experimental cat (#7, Table 2, Table 3) did show signs of PH: a TR value of 4,3 m/s, clinical signs such as respiratory distress at rest (tachypnea and indrawing) (Table 1), and anatomical changes at echocardiography and radiography, including elevated echocardiographic right heart volume, right atrium dilation, and tortuous and enlarged radiographic pulmonary vessels. By extrapolation of the ACVIM consensus statement's definition of PH risk described in dogs, this cat presented signs suggestive of a high risk of PH (Reinero et al., 2020).

## 6 – Discussion

To the authors knowledge, this is the first study evaluating STIs associated to spontaneous respiratory diseases in cats. Our results showed that STIs can easily be measured in conscious healthy cats and in cats with spontaneous respiratory diseases. Physical examinations and clinical signs of experimental cats did not affect the quality of the measurements of echocardiographic parameters. Unlike STIs, peak TR jet velocity could only be determined in 75% of healthy cats, consistent with the frequent absence of physiological TR in cats (Adin and McCloy, 2005), thereby precluding estimation of systolic PAP for this population. No correlation was found between STIs and the magnitude of TR or PR maximal velocity, and consequently between the STIs and estimated systolic and mean PAP, respectively. This contrasts with the associations found in dogs between AT and AT:ET and TR and PR max peak flow velocities which were predictive of echocardiographically-derived PH (Akabane et al., 2019; Schober and Baade, 2006).

These results could potentially be explained due to the severity of the respiratory diseases of the cats included in the study that were not severe enough to affect echocardiographic pulmonary hemodynamics, or that cats had an unknown physiologic compensatory mechanism that protect them from cardiac hemodynamic damages.

In our study, no significant difference in AT, ET, or AT:ET ratio values or any other echocardiographic parameters was found between healthy cats and cats with respiratory disorders. In dog and human patients showing signs of PH secondary to chronic respiratory condition, STIs values were significantly diminished in response to an elevation of PAP upstream when compared to healthy subjects. The elevation of sPAP over 25 mm Hg prevent the proper flow of blood through the pulmonary valve during ventricular systole which shorten the AT and ET (Beard II et al., 1991; Schober and Baade, 2006).

Our estimation of systolic PAP in cats with chronic respiratory diseases was not int favor of PH, as only one cat of our experimental group showed clinical, anatomical, and echocardiographic signs consistent with PH. Following the ACVIM consensus statement's definition of PH risk in dogs, this cat signs were consistent with a high risk of PH. It was suspected that the primary bronchiolar disorder in this cat was responsible for the development of such hemodynamical changes. Of note, AT and AT:ET values in this cat were well within the reference range for these values of the control

group and also within that of a healthy cat cohort from a different study (Vezzosi and Schober 2019). In this later study, even if type 2 pulmonary profiles were more frequent in cats with PH, AT values were not significantly different between cats with or without PH associated with chronic left-sided congestive heart failure.

It is possible that current echocardiographic definitions diagnostic tests currently used for identification diagnosis of PH in other species such as dogs are not directly applicable to cats. Studies comparing right heart catheterization with echocardiography in cats need to be conducted to allow better interpretation of findings. Another important consideration is that cats may have developed powerful pulmonary vascular adaptive and protective mechanisms that precluding them from developing increased pulmonary vascular resistance except in rare cases. Some authors reported that the response pattern of cats to pulmonary venous hypertension might be different from other species, and that a possible development of anastomoses in the pulmonary circulation could prevent the sPAP elevation, explaining the sparse presentation of PH in cats (Vezzosi and Schober, 2019). In the event of pulmonary arterial hypertension, such adaptation could also explain the absence of pulmonary hemodynamic changes in mild respiratory diseases cases, as anastomoses could help to reduce the impact of a PAP elevation. To prove this however, a lot of research will be needed.

Linear models used in our study showed that STIs were not influenced by body weight, age, sex, or heart rate. The lack of confounding factors may extend applications of STIs to large subsets of cohort patients irrespective of demographics, especially when TR is absent or unmeasurable. Lack of influence of stress-related factors such as heart rate on STIs provides an additional advantage.

## **7 – Limitations**

The small number of cats in each group was a limitation of this study and affected the statistical power of our analyses. Moreover, correlations between STIs and estimated systolic PAP values relied on TR values, which were not obtained for all control cats, further reducing the sample size available for analyses. Based on our results, approximately 30 cats per group would have been needed to bring the statistical power closer to a value of 0,8. This number is realistic considering the challenge of recruiting cats with respiratory diseases that had an echocardiographic examination. Indeed, echocardiography is rarely prescribed for cats having respiratory diseases without signs of cardiomyopathy.

Moreover, we did not obtain a definitive diagnostic for experimental cats that were recruited in the study. Therefore, this cohort of cats was likely affected with a wide variety of diseases (such as asthma, chronic bronchitis, pulmonary neoplasia, etc.) and it is likely that not all diseases have the same impact on the pulmonary vasculature. Invasive procedures and cost prohibitive diagnostics such as broncho-alveolar lavage and lung biopsies, which were not performed in any of the cats, would have contribute to narrow the list of differentials and perhaps help in interpretation of echocardiographic findings. Selecting only cats with severe respiratory diseases may have led to different findings.

Finally, right heart catheterization, the gold standard for assessment of PH, was not perform in any of the cats in this study due to the high risk of complications and concerns it raises in client-owned cats.

## **8. – Conclusion**

This study, evaluating STIs associated to spontaneous respiratory diseases in cats, showed that STIs were easily obtainable in cats with and without respiratory diseases using echocardiography and were not influenced by demographic or stress factors. When comparing two cohorts of cats, one healthy and the other with nonspecific respiratory diseases, none of the 20 echocardiographic metrics assessed was significantly different between groups. In one cat with severe respiratory signs associated with a bronchiolar disorder, STIs were within normal reference range despite marked increased in TR peak velocity suggestive of PH. Further studies are needed to determine the relevance of STIs in cats with severe PH.

## **9 – Acknowledgment**

The authors thank the diagnostic imaging technologists and cardiology staff for their assistance in acquiring imaging studies, Dr Jean-Pierre Lavoie for his expertise during the development of this project and Dr Kurt Williams for his histopathological examination of our suspected PH case.

## **10 – Literature cited**

Acierno, M.J., Brown, S., Coleman, A.E., Jepson, R.E., Papich, M., Stepien, R.L., Syme, H.M., 2018. ACVIM consensus statement : Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *Journal of veterinary internal medicine* 32, 1803-1822.



Adin, D.B., McCloy, K., 2005. Physiologic valve regurgitation in normal cats. *Journal of Veterinary Cardiology* 7, 9-13.

Akabane, R., Shimano, S., Sakatani, A., Ogawa, M., Nagakawa, M., Miyakawa, H., Miyagawa, Y., Takemura, N., 2019. Relationship between right heart echocardiographic parameters and invasive pulmonary artery pressures in canine models of chronic embolic pulmonary hypertension. *J Vet Med Sci* 81, 1485-1491.

Beard II, J.T., Newman, J.H., Loyd, J.E., Byrd III, B.F., 1991. Doppler estimation of changes in pulmonary artery pressure during hypoxic breathing. *Journal of the American Society of Echocardiography* 4, 121-130.

Evola, M.G., Edmondson, E.F., Reichle, J.K., Biller, D.S., Mitchell, C.W., Valdes-Martinez, A., 2014. Radiographic and histopathologic characteristics of pulmonary fibrosis in nine cats. *Vet Radiol Ultrasound* 55, 133-140.

MacPhail, C.M., Innocenti, C.M., Kudnig, S.T., Veir, J.K., Lappin, M.R., 2007. Atypical manifestations of feline inflammatory polyps in three cats. *J Feline Med Surg* 9, 219-225.

Pypendop, B. H., Barter, L. S., Pascoe, P.J., Ranasinghe, M. G., Pasloske, K., 2019. Hemodynamic effects of subclinical, clinical and supraclinical plasma alfaxalone concentrations in cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 46, 597-604.

Pypendop, B. H., Honkavaara, J., Ilkiw, J. E., 2017. Cardiovascular effects of dexmedetomidine, with or without MK-467, following intravenous administration in cats. *Vet Anaesth Analg* 44, 52-62.

Reinero, C., 2019 a. Interstitial lung diseases in dogs and cats part I: The idiopathic interstitial pneumonias. *Vet J* 243, 48-54.

Reinero, C., 2019 b. Interstitial lung diseases in dogs and cats part II: Known cause and other discrete forms. *Vet J* 243, 55-64.

Reinero, C., Visser, L.C., Kellihan, H.B., Masseur, I., Rozanski, E., Clercx, C., Williams, K., Abbott, J., Borgarelli, M., Scansen, B.A., 2020. ACVIM consensus statement guidelines for the diagnosis, classification, treatment, and monitoring of pulmonary hypertension in dogs. *J Vet Intern Med* 34, 549-573.

Reinero, C. R., Masseur, I., Grobman, M., Vientos-Plotts, A., Williams, K., 2019. Perspectives in veterinary medicine: Description and classification of bronchiolar disorders in cats. *Journal of veterinary internal medicine* 33, 1201-1221.

Rhinehart, J., Schober, K., Scansen, B., Yildiz, V., Bonagura, J., 2017. Effect of body position, exercise, and sedation on estimation of pulmonary artery pressure in dogs with degenerative atrioventricular valve disease. *Journal of veterinary internal medicine* 31, 1611-1621.

Schober, K. E., Baade, H., 2006. Doppler echocardiographic prediction of pulmonary hypertension in West Highland white terriers with chronic pulmonary disease. *Journal of veterinary internal medicine* 20, 912-920.

Vezzosi, T., Schober, K., 2019. Doppler-derived echocardiographic evidence of pulmonary hypertension in cats with left-sided congestive heart failure. *Journal of veterinary cardiology* 23, 58-68

# **Chapitre 3 – Exposé et analyses des résultats : Pulmonary arterial remodeling in cats with bronchiolar disorders distinct from unremarkable feline healthy lungs**

## **1 – Énoncé des rôles des auteurs**

La réalisation du 2e article cité ci-haut a nécessité le travail de cinq auteurs. Ma contribution a été de réaliser le protocole de recherche sous la supervision de Dre Masseau et Dr Williams, de participer à l'organisation des envois d'échantillons entre nos deux institutions et coordonner la numérisation des échantillons histologiques. J'ai également assumé la prise de données et leur analyse statistique. Je participe également à la rédaction de l'article en tant que première auteure et à la production de figures. Dr Williams a établi les différents diagnostics histopathologiques et Dre Masseau participe et supervise la rédaction de l'article et la réalisation des figures. Dre Reinero a participé dans l'obtention des diagnostics cliniques des animaux inclus dans le groupe expérimental. Dre Conversy a participé au recrutement d'un chat inclus dans le groupe expérimental. Cet article est présentement en ronde finale de préparation pour soumission au *Veterinary Pathology* et est rédigé en anglais.

## **2 – Abstract**

Bronchiolar disorders (BD), are newly described in cats and offers an interesting model to study pulmonary arterial remodeling (PAR), consisting of intimal proliferation and medial thickening, secondary to lung disease. The aim of the study was to compare PAR in pet cats with histopathologic diagnosis of BD to control pet cats. Lung tissue from cats with primary or secondary BD (n=13) were compared to control cats without histopathological evidence of pulmonary and cardiac diseases (n=13). Wall-to-lumen ratio scores, wall cross-sectional area (CSA) and tunic fractional area were compared between groups for small (70-300  $\mu\text{m}$ ), medium (301-999  $\mu\text{m}$ ) and large ( $\geq 1000 \mu\text{m}$ ) arterial caliber. PAR was found in both groups affecting more small, medium and large pulmonary arteries in that order. No significant differences were noted between groups for wall-to-lumen ratio and wall CSA for all three categories of arteries. However, adventitia fractional area was significantly larger in cats with BD when compared to controls, for small ( $P = 0,003$ ) and medium ( $P = 0,004$ ) arteries. The media of small pulmonary arteries and the intima of medium pulmonary arteries were significantly proportionally smaller in the BD group

compared to controls. No significant differences in tunic fractional area were noted between groups for large arteries. Although wall-to-lumen ratio scores and wall CSA were similar between groups, the pattern of PAR in small and medium pulmonary arteries differed between cats with and without BD. Our results suggest that BD-induced PAR is driven by different mechanisms than spontaneous PAR in cats.

### **3 – Introduction**

The pulmonary arteries, bronchi and bronchioles are intimately connected with each other transporting blood and air, respectively, from the hilus to the periphery of the lung lobe (Rhodin, 1978). In cats, deoxygenated blood travels up to 12 orders of pulmonary arteries before reaching the gas exchange zones (Yen et al., 1984). Pulmonary blood flow is ensured by a large network of conduit arteries offering little resistance and allowing the entire volume of blood ejected from the right ventricle to rapidly reach the capillary pulmonary bed. A thin pulmonary arterial wall relative to its systemic arterial counterpart provides a larger radius for the same caliber and contributes to low resistance of blood flow in the pulmonary circulation. Pulmonary arteries can undergo changes to their vascular wall, a phenomenon referred to as “pulmonary vascular remodeling”, that can threaten the magnitude of their lumen and therefore, induce increased resistance to blood flow. Increased pulmonary vascular resistance will progressively lead to an increase in pulmonary arterial pressure and cardiac afterload. Disorders whose main or initial target is the pulmonary vasculature are considered as primary. Pulmonary capillary hemangiomatosis is an example of this category of disorder (Jaffey et al., 2017). In humans, the development of pulmonary hypertension (PH), corresponding to an abnormal elevation of pulmonary arterial pressure, most commonly occurs secondary to an underlying disease such as cardiac diseases, thromboembolic disorders, parasitic diseases and lung diseases, with lung diseases considered the second most common cause (Simonneau et al., 2009). In humans, PH-derived lung diseases are associated with increased morbidity and mortality (Strange et al., 2012). Among proposed mechanisms in lung diseases leading to PH is the release of vasoconstrictors or inflammatory mediators acting as growth factors and inducing hyperplasia of the tunica intima and hypertrophy of the media, which together contribute to an increase in vascular tone and luminal narrowing (McGettrick and Peacock, 2020). There is also growing evidence that vascular damage occurs even in still preserved lung regions of

patients with certain chronic lung diseases suggesting that other, yet unclear, mechanisms exist (Colombat et al., 2007).

Despite respiratory disorders frequently being the cause of visits to the primary care veterinarian in cats, scant information is available on PH resulting from lung diseases (except for parasitic respiratory disease which will not be discussed further). Echocardiographic findings supportive of PH in cats with respiratory disease have only been reported anecdotally in association with pulmonary fibrosis (Evola et al., 2014; Secrest et al., 2008). However, pulmonary fibrosis is an end-stage histological change occurring when the tissue has exhausted its repair capacities, thus reducing the possibility of responding to treatment. Fibrosis is not specific to a particular etiology and can develop following various insults (Reinero, 2019a). Importantly, it is speculated that some forms of bronchiolar disorders (BD), a newly described entity in cats, may trigger a final common pathway leading to pulmonary fibrosis (Reinero et al., 2019a). Thus, BD offer an interesting model to study pulmonary vascular remodeling secondary to lung disease. Both forms of BD, primary and secondary, have a common target, the bronchioles, consisting of small airways, lacking cartilage in their walls and measuring <2 mm in diameter, and located upstream of the gas exchange units (Reinero et al., 2019a). In some cases, BD may be reversible, or progression of pulmonary fibrosis halted when the etiology driving small airway damage can be removed or in response to a specific therapy. This makes study of BD highly relevant (Reinero et al., 2019a). The concomitant presence of vascular lesions in BD in cats and their role in pathophysiology, treatment and prognosis is unknown.

The aims of the study were to determine whether cats with histopathologic diagnosis of BD had greater pulmonary arterial remodeling than control cats without BD. We hypothesized that cats with BD (primary or secondary) would show pulmonary arterial remodeling as evidenced by increased wall-to-lumen ratio scores, wall cross-sectional (CSA) and tunic fractional area compared to control cats.

## **4 – Materials and methods**

### **4.1 Control group**

A search through the medical databases of the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire CHUV and the Centre de diagnostic vétérinaire universitaire of the Université de Montréal (CDVUM)

identified 171 cats (>1 year of age) who underwent post-mortem examination between 2009 and 2019. Cats were included whether they were euthanatized or died of natural causes. Inclusion criteria were age >1 year-old and a necropsy report lacking mention of lung or cardiac abnormalities. Cats with acute cardiac decompensation but without reported histologic changes indicative of pulmonary or cardiac disease were not excluded. Thirty cats were identified from this process and histologic slides of lung tissue were reviewed by an ACVP specialist in pathology [P.H., see 9. – Acknowledgment]. Lung tissue with signs of tissue putrefaction or parasitic infection (e.g., noted parasites or large numbers of eosinophils) or other major anomaly interfering with overall tissue assessment (p. ex., major tissue folding) were excluded. Expected artifacts related to euthanasia solution were not an exclusion criterion. A total of 13 cats were included in the control group. Available demographic information and clinical history was retrieved from medical record or necropsy report, with 5 cats lacking a clinical history. Paraffin embedded formalin-fixed lung tissue was de novo cut in 5 µm sections and stained with hematoxylin and eosin (HE) and Masson's trichrome at the CDVUM. Unstained histology slides were shipped to the Michigan State University Diagnostic Laboratory for Verhoeff-van Gieson (VVG) staining.

## **4.2 Bronchiolar disorder group**

Twelve cats originally admitted to the University of Missouri Veterinary Health Center between 2015 and 2019 and one cat admitted to the CHUV in 2019 who received a histopathologic diagnosis of primary or secondary bronchiolar disorder were enrolled. Sex, reproductive status, breed, age, and cause of death (euthanasia or natural death) were recorded. Following euthanasia or natural death, lung tissue was harvested with owner consent and formalin-fixed lung tissue or unstained paraffin-embedded formalin-fixed lung tissue was submitted to the Michigan State University Diagnostic Laboratory for histopathologic preparation. Histology slides stained with HE, Masson's trichrome and VVG were shipped to the Université de Montréal for further analysis.

## **4.3 Lung tissue digitalisation**

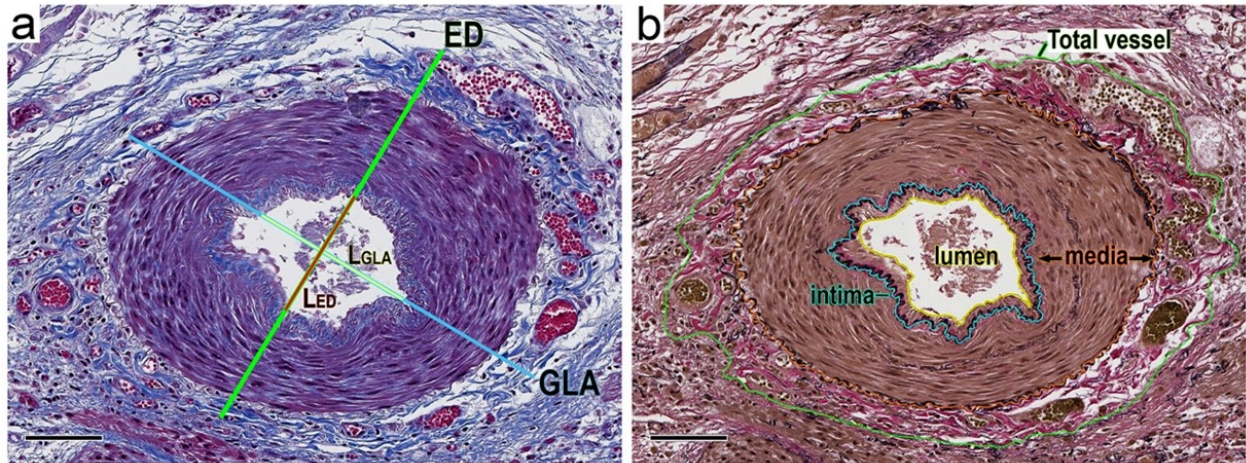
All histology slides from BD and control groups were scanned at 400x total magnification by the CDVUM. Each file included a single image encompassing the entire slide. Files originating from the same block were identified with the same number, independently of the stain. One file per block and per stain was available for each cat, with a maximal number of two blocks per cat. Files were transferred to a server (Aperio eSlides manager, version 12.3.3.5049, © 2006 - 2017 All Rights

Reserved, Leica Biosystems) with personalized remote access via a login account. For blind evaluation of pulmonary arteries, upon accession to the server, files were duplicated, and the original files were left in the background until the histomorphometric data were collected. For this new set of files, a 6-digit random file number (through a random number generator available at <https://stattrek.com/statistics/random-number-generator.aspx#error>) was assigned to each block/file, keeping this same number for the various stains to allow parallel analysis. Images were visualized with Aperio ImageScope x64 (version 12.4.3, Leica Biosystems). The software's design allowed zooming in and out of the images while keeping track of the magnification. For clarity, the term "equivalent magnification" indicates the level of magnification at which the image was captured. All measurements were carried out with software measurement tools using a Windows Surface Pro pad operating under Windows 10 (Microsoft corporation).

#### **4.4 Vessel selection and quality control**

A minimum of four pulmonary arteries were selected from each VVG-stained derived image based upon their cross-sectional appearance favoring vessels cut at an angle approaching 90 degrees to their long axis. To allow parallel analysis of the same vessels between the various staining, only arteries cut at similar angles on VVG and Masson's trichrome stains for the same block were included. For each image, selected vessels were identified sequentially using the counter tool to avoid duplicates and to allow later review, if deemed necessary. Branching or disrupted vessels due to tissue manipulation or vessels found in folded regions of tissue were avoided. A selection preference was given to arteries located in areas exempt of euthanasia-related artifact such as pulmonary congestion and edema (Boivin et al., 2017; Port et al., 1978).

On Masson's trichrome stained slides two orthogonal lines dividing each selected artery into four quadrants were drawn as previously described (Hamilton, 1966a). The first line was traced along the largest part of the lumen and labeled as the great longitudinal axis (GLA, blue) as shown in Figure 1a. The second line drawn at 90 degrees from the former was designated as the external diameter (ED, green). The abluminal border of the adventitial tunic marked by the termination of collagen arrangement served as the outer limits of the vessel. This line was drawn with the ruler tool, and length in  $\mu\text{m}$  was recorded. An example of vessel outline is shown in green on Figure 1b. The length of each line drawn with the ruler tool was recorded.



**Figure 1** – Example of the method performed to obtain the values of a) GLA, ED and b) cross-sectional area in Image scope on a medium caliber muscular pulmonary artery of a cat with bronchiolar disorder.

*Photomicrographs of a medium muscular artery of a 7-year-old (Domestic shorthair) cat with a bronchiolar disorder. (a) Masson's trichrome staining was used to trace the great longitudinal axis (GLA, blue) through the longest luminal profile. The external diameter (ED, green) was traced perpendicular to the GLA. The abluminal edge of the collagen containing sheet served as arterial external landmark. The portion of each line encompassing the lumen (LGLA and LED) was drawn in yellow and red, respectively, using the luminal edge of the intima for landmark. Each line was drawn three times and averaged. (b) Verhoeff-van Gieson's staining of elastin allowed for easy recognition of the internal and external elastic laminae and their use as landmarks for distinction of the arterial tunics. From outside to inside, the encountered tunics were the adventitia, media and intima. The adventitia corresponded to the portion of the wall between the abluminal edge of the collagen containing sheet, i.e., hence the external landmark of the vessel (green outline) and the abluminal edge of the external elastic lamina (orange outline). The media was sandwiched between the external and the internal (cyan outline) elastic laminae. The intimal tunic designated the portion of the wall bordering the lumen of the vessel (yellow outline) to the internal elastic membrane. Each outline was drawn three times, generating three perimeter values and three underlying area values. Values for each variable were then averaged. The images were taken at 200X equivalent magnification. Calibration, scale bar equivalent to 80  $\mu\text{m}$ .*



The GLA/ED ratio was used to determine the circularity of the vessel and assess the effect of tissue manipulation and preparation for histology (Barberà et al., 1994). Vessels cut at an oblique angle and susceptible to overestimate wall thickening were excluded. Arteries with a ratio >3 were individually assessed prior to exclusion.

To determine the effect of tissue manipulation and preparation (p. ex., vascular contraction, and tissue shrinkage) for histology, a narrowing index (NI) was determined for each artery. As such, the theoretical diameter based on the ratio of the arterial external elastic lamina (EEL) perimeter to  $\pi$  was calculated. This theoretical diameter was then divided by the total vessel area to obtain a NI (Barberà et al., 1994). Although both outlines were performed on arteries stained with Masson's trichrome, examples of these outlines are illustrated with VVG staining on Figure 1b (EEL, orange outline; total vessel area, green outline).

#### **4.5 Determination of arterial caliber**

Integration of GLA and ED into the following equation:  $(GLA+ED)/2$  provided basis for determination of vessel caliber. Histologic features such as number of layers of smooth muscle cells in the media were also examined prior to classification. In accordance with anticipated histologic features for the caliber category, pulmonary arteries with values  $\geq 1000\mu\text{m}$  were classified as large elastic arteries. Arteries ranging from 301 to 999  $\mu\text{m}$  and from 70 to 300  $\mu\text{m}$  were designated as medium- and small-caliber arteries, respectively.

#### **4.6 Determination of the wall-to-lumen ratio**

Overall assessment of wall thickness and luminal narrowing was achieved using the wall-to-lumen ratio. Using GLA and ED, part of each axis encompassing the lumen up to the luminal edge of the endothelial cells and assigned  $L_{GLA}$  and  $L_{ED}$  (Figure 1a) was measured three times, averaged, and further subtracted from prior GLA and ED values. An a priori test confirmed the need for 3 repeated measurements of each variable (GLA, ED,  $L_{GLA}$  and  $L_{ED}$ ) to decrease the uncertainty in measurements and obtain a reliable mean wall-to-lumen ratio value. Further repetitions of measurements did not significantly alter the average value. Mean wall thickness (MWT) was calculated based on the following equation:

$$MWT = (GLA - L_{GLA}) + (ED - L_{ED})/4$$

Mean luminal diameter (MLD) was calculated based on the following equation:

$$MLD = (L_{GLA} + L_{ED})/2$$

These parameters were used to calculate the wall-to-lumen ratio = MWT/MLD for each artery. A scoring system adapted from previous studies (Hamilton, 1966a; Rogers et al., 1971) was then applied to the mean wall-to-lumen ratio for each cat according to the caliber of the vessel (Table 1).

Scores	Range of RWL	Characteristics
0	≤ 0,40	No lesions
1	0,41 – 0,75	Slight
2	0,76 – 1,00	Moderate
3	1,10 – 2,00	Important
4	2,10 – 3,00	Severe
5	≥ 3,10	Critical

**Table 1**– Scores attributed to all cats included in the study according to their wall-to-lumen ratio for small, medium, and large caliber pulmonary arteries (Hamilton, 1966a; Rogers et al., 1971). *Table of scores attributed for small, medium, and large caliber pulmonary arteries in both cats with bronchiolar disorders and control cats, based on the wall-to-lumen ratio (RWL). Characteristics refers to the degree of severity of the remodeling based on RWL values.*

#### 4.7 Wall cross-sectional area (CSA)

The outer and luminal outline of each artery was traced using the ImageScope pen tool and a Microsoft Surface pen on Masson’s trichrome selected arteries. Each outline was repeated three times. This step provided an average total vessel area and luminal area, respectively. An a priori test similar to that described for wall-to-lumen ratio validated the number of repeated measurements to obtain a reliable mean value that would not change significantly with increasing number of individual measurements. The percent wall cross-sectional area was obtained for each artery using the following two-step equation:

$$\begin{aligned} \text{Total vessel area} - \text{Luminal area} &= \text{Wall area} \\ \text{Wall area} / \text{Total vessel area} \times 100 &= \% \text{ wall CSA} \end{aligned}$$

## 4.8 Tunic fractional cross-sectional area

The fractional area of each tunic (i.e., tunica intima (TI), tunica media (TM), and tunica adventitia (TA) comprising the wall of each selected artery was determined using landmarks adapted from previous studies (Chazova et al., 1995; Stacher et al., 2012), with inclusion of the internal elastic lamina in TI and of the external elastic lamina in TM. This step provided four outlines, as illustrated on Figure 1b. For large arteries extending beyond the field of view, outlines were drawn at the highest possible magnification (i.e., either 20X or 200X) encompassing the entire vessel. Once the outline of the vessel was achieved, the operator zoomed in at 400X and adjusted the path of the outline as needed to better reflect the anatomical landmarks discussed previously. Each outline was repeated three times providing an average area value. Each value was then used to calculate the percent surface area of the wall occupied by each tunic using the following equations and based on outlines illustrated on Figure 1b:

$$\text{Fractional area of the Intima} = (\text{Intimal area (cyan outline)} - \text{Luminal area (yellow outline)}) / \text{Total wall area (green outline)} \times 100$$
$$\text{Fractional area of the Media} = (\text{Medial area (orange outline)} - \text{Intimal area (cyan outline)}) / \text{Total wall area (green outline)} \times 100$$
$$\text{Fractional area of the Adventitia} = (\text{Total Vessel Area (green outline)} - \text{Medial area (orange outline)}) / \text{Total wall area (green outline)} \times 100.$$

The percent fractional area of each tunic calculated for arteries of the same caliber was averaged for each individual.

## 4.9 Statistical analysis

Data analysis was generated using SigmaPlot software, Version 14,0 (Copyright © 2017 Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). Descriptive statistics were carried out for age, weight, and sex and are reported as median and interquartile range (IQR) for both groups.

Shapiro-Wilk test was used to assess normality of data distribution. GLA/ED and NI values of all selected vessels were compared between groups using a two-tailed Student t test. Nonparametric tests or parametric tests, when applicable, were performed for MTW and MDL to assess differences between groups. A Bonferroni correction with  $P \geq 0,016$  (0,05/3) was applied to group comparisons for MWT and MLD to account for each caliber categories. A two-way ANOVA was performed on

CSA raw data to assess the effects of group and caliber and post hoc test were done using the Holm-Sidak method. Wall-to-lumen ratio scores and CSA mean values obtained for each of the three calibers per individual were compared between groups to assess the severity of remodeling using a unilateral Mann-Whitney Rank Sum Test or Student t test were applicable. Again, a Bonferroni correction with  $P \geq 0,016$  ( $0,05/3$ ) was applied. Differences in tunic fractional area between groups and according to arterial caliber was assessed with a unilateral Student t-test with a Bonferroni correction with  $P \geq 0,016$  ( $0,05/3$ ). A linear model was used to evaluate whether factors such as age, weight and sex had an influence on any of the histological parameters assessed in this study (i.e., wall-to-lumen ratio scores, CSA, tunic fractional area). The level of significance was set at 0,05, unless otherwise indicated.

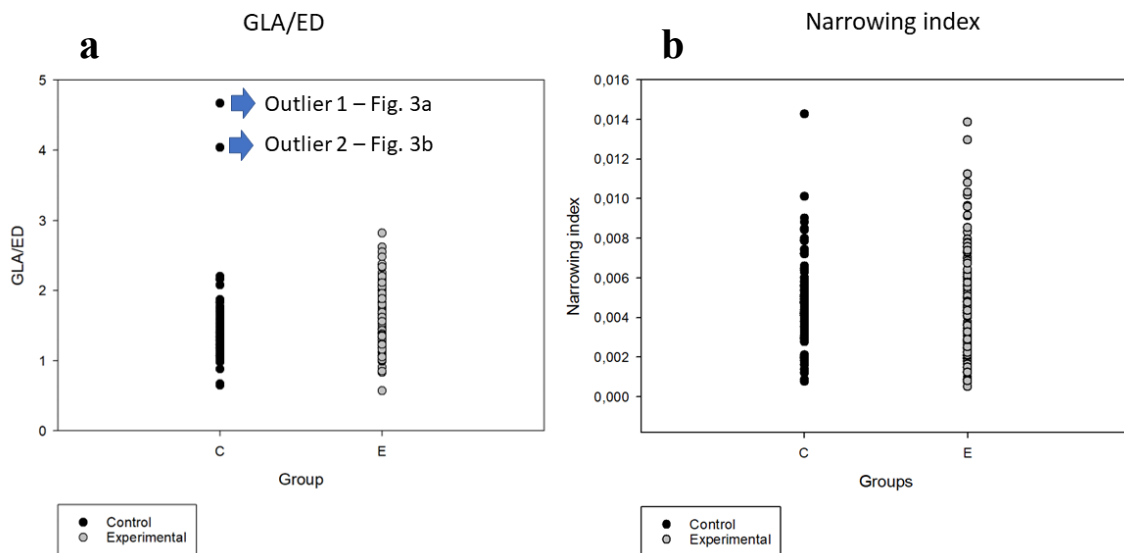
## 5 – Results

A total of 26 cats (control, n=13; experimental, n=13) were enrolled in the study. Out of 13 control cats, 11 were domestic shorthair cats and two were Abyssinian cats. Age and body weight of control cats ranged from 1,5 to 17 years (median: 6,5 years, IQR: 4,5 – 10,5) and from 2,75 to 7,62 kg (median: 4,90 kg, IQR: 3,80 – 6,60) respectively. Sex ratio was 1: 0,85 (male = 7, female = 6) with a single intact male and a similar number of castrated male (n=6) and spayed female (n= 6). Based on necropsy reports, cause of death or reason for euthanasia was attributed to acute heart failure (n=3), and one cat for each of the following conditions: cerebellar abiotrophy/degenerative myelopathy (n=1), atypical B cell lymphoma (n=1), intestinal lymphoma (n=1), drowning (n=1), trauma (i.e., hit by car) (n=1), hepatic lipidosis (n=1), systemic toxoplasmosis without pulmonary lesions (n=1), chronic renal failure with metastatic mineralization (n=1), and ureteroliths and subcutaneous ureteral bypass (SUB) obstruction (n=1). The reason for euthanasia or cause of natural death was undetermined in one cat.

The BD group was comprised of 12 domestic shorthair cats, one Siamese and one Devon Rex cat. Age and body weight of these cats ranged from 4 to 13 years (median: 10 years, IQR: 7 - 12) and from 2,70 to 8,65 kg (median: 3,91 kg, IQR: 3,40 – 4,80), respectively. The sex ratio was identical to that of the control group being of 1:0,85 (male = 7, female =6), all gonadectomized. Primary and secondary bronchiolar disorders were diagnosed in four and nine cats, respectively. Secondary bronchiolar disorders occurred from extension of interstitial lung disease (n=7) or extension of large airway disease (n=2; 1 with allergic asthma and 1 with chronic bronchitis).

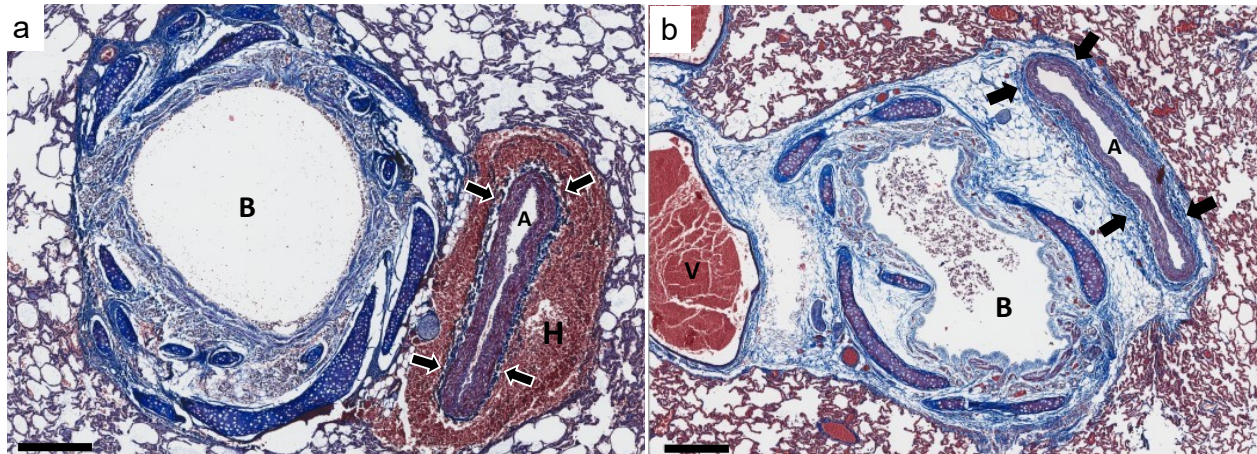
## 5.1 Vessel selection based on circularity and narrowing index

A total of 237 vessels were initially selected on VVG slides. Seventeen vessels were excluded, either because the cut angle was not appropriate for measurements on both staining, or branching was present on the Masson's trichrome stain. Five vessels were excluded based on  $GLA/ED > 3$  and visual inspection. Two pulmonary arteries, obtained from two control cats, had a  $GLA/ED$  ratio of 4,67 and 4,04, respectively (outliers, Figure 2). Evaluation of these two arteries and nearby structures revealed that in each case, the artery was flanked by an almost perfectly circular nearby bronchus, suggesting that the bronchovascular bundle formed of the paired airway and artery, was cut in a perpendicular fashion to the long axis (Figure 3). The increased  $GLA/ED$  obtained for both arteries was thus attributed to partial arterial collapse and therefore, both arteries were included in subsequent analyses. In the end, a minimum of four and a maximum of eight vessels per slide were included in the study for a total of 215 pulmonary arteries, distributed among the control ( $n = 83$ ) and BD ( $n = 132$ ) group. The  $GLA/ED$  mean  $\pm$  standard deviation (SD) obtained for the control and BD groups were  $1,43 \pm 0,56$  and  $1,47 \pm 0,42$ , respectively. No significant difference in  $GLA/ED$  ratio was noted between groups ( $P = 0,53$ ). Narrowing index (mean  $\pm$  SD) for the control and experimental groups were  $0,0047 \pm 0,0023$  and  $0,0047 \pm 0,0026$ , respectively (Figure 2). The degree of tissue shrinkage and vascular contraction assessed by the NI revealed no significant difference between groups ( $P = 0,83$ ).



**Figure 2** – Distribution of  $GLA/ED$  ratio and narrowing index for all selected pulmonary arteries, irrespective of caliber, for the control and bronchiolar disorders cats group.

Distribution of a) GLA/ED and b) narrowing index (NI) values for the 215 selected vessels ( $n=83$ , control group;  $n=132$ , bronchiolar disorders group). No significant differences were noted between the groups for GLA/ED and NI. Outliers 1 and 2 had  $GLA/ED > 3$ . They are shown on Figure 3.



**Figure 3** – Photomicrographs of large elastic arteries from control cats having obtained GLA/ED values greater than 3

Large elastic pulmonary arteries (A) from (a) outlier 1 (GLA/ED of 4.67) and (b) outlier 2 (GLA/ED of 4.04) shown in Figure 2. Both were from the control group. In both cases, the nearby airway (B) displays features (i.e., uniformity of the wall, circularity (for a)) suggesting that the broncho vascular bundle (i.e., paired airway-pulmonary artery) was cut in a perpendicular fashion to the long axis. Of note, the pulmonary artery in (a) is surrounded by a zone of hemorrhage, not included in wall measurements. B: bronchus, A: pulmonary artery, V: pulmonary vein, H: hemorrhage. Images were taken from Masson's trichrome slides at a 40X equivalent magnification, scale bar = 400  $\mu\text{m}$ .

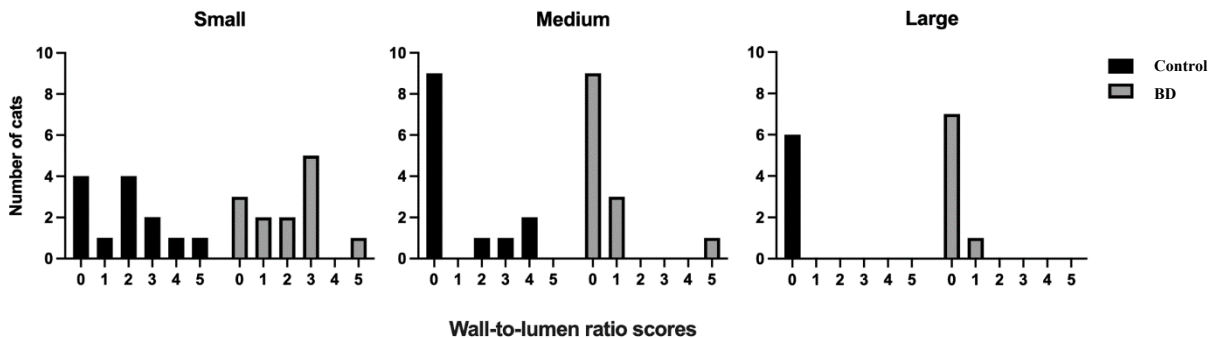
## 5.2 Pulmonary artery caliber

Determination of vessel caliber based on GLA, and ED was straightforward for most pulmonary arteries. Only three arteries had values  $<30 \mu\text{m}$  near the lower or upper limits of a caliber category. Two arteries from the control group and one from the BD group had values of 1027  $\mu\text{m}$ , 1000  $\mu\text{m}$  and 298  $\mu\text{m}$ , respectively. For these three arteries, specific histologic features served for classification into a caliber category. Arteries with calibers of 1027  $\mu\text{m}$  and 1000  $\mu\text{m}$  were classified as large arteries based upon the presence of elastin fibers scattered around the media and the number of smooth muscle cell layers  $>5$ . The 298  $\mu\text{m}$  caliber artery was categorized as a small muscular artery following the number of layers of smooth muscle, limited to three, comprised in

the media (Rhodin, 1978). Therefore, the 83 pulmonary arteries from the control group were classified into large- (n = 9), medium- (n = 19), and small- (n = 55) caliber arteries. Distribution of vessel caliber in the experimental group was the following: 10, 43, and 79 for large -, medium - and small-caliber pulmonary arteries, respectively, for a total of 132 selected vessels.

### 5.3 Wall-to-lumen ratio

Mean, standard deviation and P values for MWT and MLD according to arterial caliber and group are reported in Table 1. For all three calibers of artery, no significant difference in either parameter was observed between groups. Next, MWT and MLD served to determine the wall-to-lumen ratio for each artery. Most cats showed a wide range of wall-to-lumen ratios, inversely related to caliber, that would be represented by at least three different scores in both control and BD group. As a result, the distribution frequency of mean wall-to-lumen ratio score for each group is shown in Figure 4. All scores were represented in the control group. BD cats had mean wall-to-lumen ratio scores ranging from 0 to 5, with the only exception of 4, which was not represented in this group. Only one cat from the control group and two cats from the BD group had a score of 0 for all evaluated pulmonary arteries, resulting in a prevalence of pulmonary arterial remodeling of 23 out of 26 cats. A similar number of cats in each group (8/13) had a score  $\geq 2$  for small pulmonary arteries, corresponding to moderate to critical remodeling. Four cats from the control group and only one cat from the BD group had a score of  $\geq 2$  for medium pulmonary arteries.



**Figure 4** – Distribution frequency of wall to lumen ratio scores (0-5) for small, medium, and large caliber pulmonary arteries from control and bronchiolar disorder groups.

*Distribution frequency of wall to lumen ratio scores (0-5) for small, medium, and large caliber pulmonary arteries from control and bronchiolar disorders groups. Experimental cats had wall-to-lumen ratio scores equivalent to those of the control group for all three arterial calibers (small: P = 0,36, medium: P = 0,41, large : P = 0,38).BD : Bronchiolar disorders.*

All but one large artery scored 0 for wall-to-lumen ratio, the exception being one artery in the BD group obtaining a score of 1. BD cats had wall-to-lumen ratio scores like those of the control group for each caliber category (small:  $P = 0,36$ , medium:  $P = 0,41$ , large:  $P = 0,38$ ; Table 2).

Variable	Control	BD	<i>P</i> value
<i>Small arteries</i>			
Mean wall thickness (mm)	57,98 ± 19,1	56,08 ± 21,79	0,816
Mean luminal diameter (mm)	87,71 ± 39,95	80,68 ± 3780	0,682
Wall-to-lumen ratio score	1,85 ± 1,63	2,00 ± 1,53	0,366
Wall cross-sectional area (%)	80,21 ± 13,78	78,65 ± 15,69	0,395
<i>Medium arteries</i>			
Mean wall thickness (mm)	93,88 ± 37,92	96,35 ± 21,97	0,841
Mean luminal diameter (mm)	285,75 ± 172,76	358,52 ± 112,06	0,215
Wall-to-lumen ratio score	1,00 ± 1,63	0,61 ± 1,39	0,413
Wall cross-sectional area (%)	67,63 ± 24,07	62,07 ± 3,77	0,426
<i>Large arteries</i>			
Mean wall thickness (mm)	157,64 ± 53,88	178,77 ± 97,34	0,852
Mean luminal diameter (mm)	931,17 ± 311,86	1224,52 ± 453,80	0,200
Wall-to-lumen ratio score	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,18	0,378
Wall cross-sectional area (%)	57,45 ± 24,43	44,23 ± 21,06	0,150

**Table 2** – Histomorphometric evaluation of pulmonary arteries in control and bronchiolar disorders cats according to vessel caliber.

Data are presented as mean ± standard deviation. *P* values were obtained using Student *T* test / Mann-Whitney tests with a Bonferroni correction with  $P \geq 0,016$  ( $0,05/3$ ) to take each caliber categories into account. BD: Bronchiolar disorders.



#### **5.4 Wall cross-sectional area**

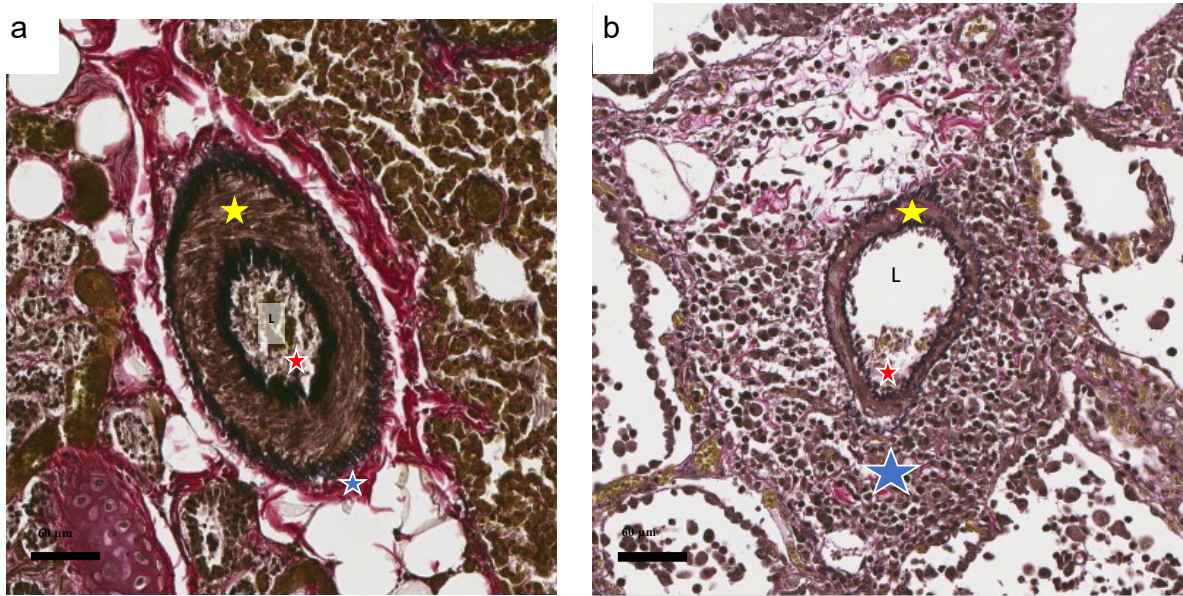
Results for wall cross-sectional area are reported in Table 2. No significant differences were noted in wall cross sectional area of pulmonary arteries (small,  $P = 0,40$ ; medium,  $P = 0,43$ ; large,  $P = 0,15$ ) between groups and no interaction between groups and calibers was found ( $P = 0,581$ ). Like wall-to-lumen ratio scores, the wall CSA was significantly different between the three calibers ( $P < 0,001$ ). Post hoc tests revealed that small pulmonary arteries had a greater percent CSA occupied by the wall than medium ( $P=0,004$ ) and large pulmonary arteries ( $P < 0,001$ ), the latter two not showing any significant difference between each other ( $P > 0,05$ ).

#### **5.5 Percent fractional tunic area**

Mean and standard deviation of percent fractional tunic area according to pulmonary arterial caliber for each group and results from statistical analyses are reported in Table 3. Significant differences in percent fractional tunic area were obtained between groups for small and medium pulmonary arteries, although these differences were dissimilar between the two vessel calibers (Table 3). Small pulmonary arteries of experimental cats had an approximately 10% lower medial and 12% higher adventitial-fractional tunic area compared to control cats (Figure 5). For this caliber, the percent intimal fractional tunic area was similar between groups. This is in contrast with medium pulmonary arteries in which the percent intimal fractional tunic area was lower in the experimental group but similar for the media. As for small pulmonary arteries, the adventitial tunic occupied a greater fraction of the arterial wall of medium sized pulmonary arteries of experimental cats as shown in Figure 6. No significant differences were noted between groups for any of the tunic fractional area of large elastic arteries (Table 3).

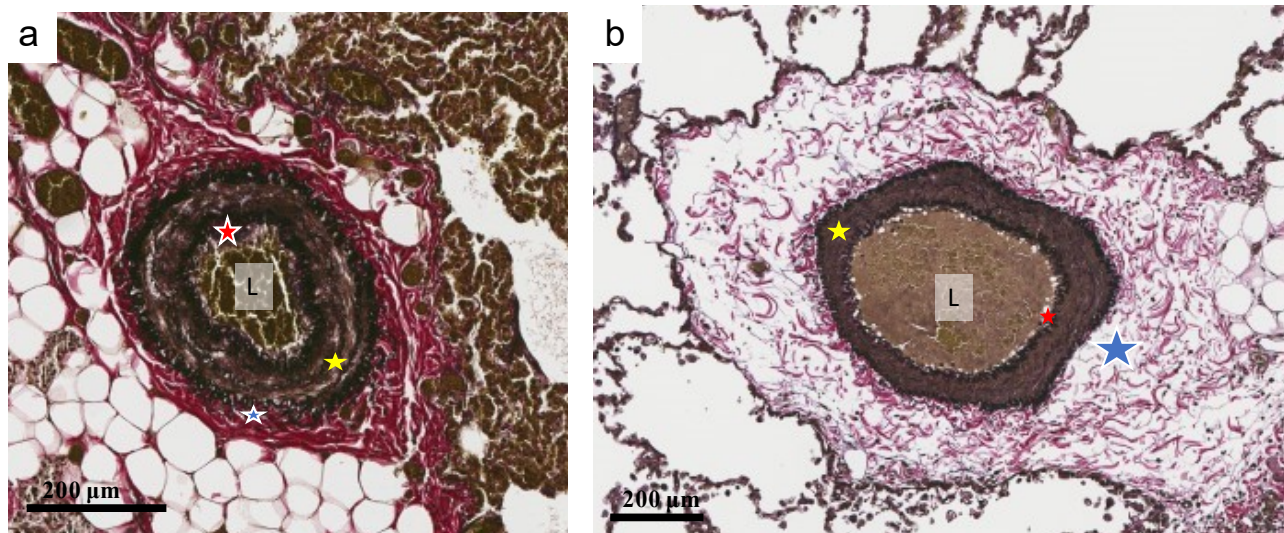
	Intima			Media			Adventitia		
	Control	BD	<i>P</i> value	Control	BD	<i>P</i> value	Control	BD	<i>P</i> value
<b>Caliber</b>									
<b>Small</b>	12 ± 4	10 ± 5	<i>0,07</i>	43 ± 8	33 ± 10*	<b><i>0,006</i></b>	45 ± 8	57 ± 11*	<b><i>0,002</i></b>
<b>Medium</b>	11 ± 4	6 ± 3*	<b><i>&lt;0,001</i></b>	46 ± 9	39 ± 7	<i>0,031</i>	43 ± 10	54 ± 7*	<b><i>0,002</i></b>
<b>Large</b>	5 ± 1	6 ± 7	<i>0,07</i>	45 ± 7	41 ± 9	<i>0,171</i>	49 ± 7	53 ± 7	<i>0,216</i>

**Table 3** – Fractional tunic area (%) of pulmonary artery walls from control and bronchiolar disorders cats according to vessel caliber. Results of unilateral Student T test / Mann-Whitney tests for the assessment of severity of changes in fractional tunic area of pulmonary arteries in both control and bronchiolar disorders groups for each category of artery calibers (small, medium, large). A Bonferroni correction with  $P \geq 0,016$  ( $0,05/3$ ) was applied to take each category of caliber into account. Values are % mean ± standard deviation of the mean. Significant differences are marked with (\*) and *P* values for significant data are highlighted in bold. BD: Bronchiolar disorders



**Figure 5** – Examples of two small pulmonary arteries with identical wall-to-lumen scores but different % tunic fractional area.

*a) Artery obtained from a 6,5-year-old neutered male Domestic shorthair cat comprised in the control group. The wall-to-lumen ratio was 2,16 corresponding to a score of 4. The adventitia (blue star) has a normal composition and is relatively thin, occupying only 29% of the wall. The media (yellow star) and the intima (red star) are thickened, reducing the size of the lumen. b) The artery was obtained from a 12-year-old female spayed Siamese cat with a primary bronchiolar disorder. The wall-to-lumen ratio is 2,6, yielding a score of 4, similar to (a). In this case, the adventitia (blue star) is thickened by an accumulation of inflammatory cells and fibroblasts, occupying 63% of the wall. The intima (red star) is also slightly hypertrophied, but not significantly. The media (yellow star) is in normal proportion, but vacuoles can be noted. – VVG staining, 400X magnification, scale bar = 60 µm.*



**Figure 6** – Examples of two different pattern of remodeling in medium pulmonary arteries from control and bronchiolar disorders cats.

*(a) The wall-to-lumen ratio was 0,77 assigning a score of 2 to this artery obtained from a 6,5-year-old neutered male Domestic shorthair cat included in the control group. The adventitia (blue star) is thin, occupying 31% of the wall, and its composition is normal. The media (yellow star) is within normal proportions, but some vacuoles can be found. The intima shows an eccentric lesion (red star) and is significantly thickened, reducing the lumen opening. (b) The wall-to-lumen ratio was 0,91, yielding a score of 2, similar to the artery from image a. This artery belonged to a 9-year-old neutered male Domestic shorthair cat with a primary bronchiolar disorder. The adventitia (blue star) is significantly prominent (44% of the wall) demonstrating a large amount of oedema filling spaces in the loose connective tissue and a great number of cells scattered between the collagen sheets. The media (yellow star) and intima (red star) seems within normal proportions. L, lumen. – VVG, 100X equivalent magnification, scalebar = 200 µm.*

## 5.6 Influence of age, body weight and sex on measurements

Results from linear models did not show any effect of age, body weight or sex on wall-to-lumen ratio scores for either small ( $P = 0,94$ ,  $P = 0,58$ ,  $P = 0,90$ , respectively), medium ( $P = 0,44$ ,  $P = 0,73$ ,  $P = 0,53$ ) and large vessels ( $P = 0,92$ ,  $P = 0,60$ ,  $P = 0,45$ ), wall CSA for small ( $P = 0,33$ ,  $P = 0,73$ ,  $P = 0,54$ ), medium ( $P = 0,06$ ,  $P = 0,92$ ,  $P = 0,37$ ) and large vessels ( $P = 0,36$ ,  $P = 0,83$ ,  $P = 0,10$ ) or fractional tunic area of small (intima :  $P = 0,10$ ,  $P = 0,12$ ,  $P = 0,32$ ; media:  $P = 0,10$ ,  $P = 0,07$ ,  $P = 0,36$ ; adventitia:  $P = 0,48$ ,  $P = 0,36$ ,  $P = 0,72$ ), medium (intima :  $P = 0,06$ ,  $P = 0,32$ ,  $P = 0,56$ ; media:  $P = 0,34$ ,  $P = 0,43$ ,  $P = 0,22$ ; adventitia:  $P = 0,11$ ,  $P = 0,69$ ,  $P = 0,33$ ) and large arteries (intima :  $P = 0,78$ ,  $P = 0,37$ ,  $P = 0,46$ ; media:  $P = 0,81$ ,  $P = 0,63$ ,  $P = 0,31$ ; adventitia:  $P = 0,66$ ,  $P = 0,88$ ,  $P = 0,59$ ). In other words, the significant effect of percent fractional tunic area for small and medium pulmonary arteries between groups was not attributable to age, body weight or sex.

## 6 – Discussion

This study revealed that PAR lesions were present in both the control and bronchiolar disorders cats, encompassing all degree of severity in both groups. However, significant differences in pulmonary arterial remodeling between cats with and without bronchiolar disorders have been observed. These differences were found mainly at the level of the fractional area of the vessel occupied by each of the tunics and were specific to the caliber of the pulmonary arteries, involving small and medium sized pulmonary arteries with no difference between groups for large elastic arteries. Because thickening affected different tunics in each group, wall-to-lumen score and wall cross-sectional area were not different between the bronchiolar disorders and control groups.

This latter finding was contrary to our hypothesis. We expected cats with bronchiolar disorders to have superior pulmonary vascular remodeling than control cats that would manifest as an increase in thickness of the arterial wall leading to a decrease in luminal size. This hypothesis was based on studies in humans with airway disease such as chronic obstructive pulmonary disease (Magee et al., 1988; Wright et al., 1992) or pulmonary parenchymal disease such as idiopathic pulmonary fibrosis (IPF)(Gaikwad et al., 2022) showing that in most instances, the presence of pulmonary vascular remodeling leads to an increase in wall thickness, even in mild stages of disease. Reported morphological changes of pulmonary arteries consist of intimal thickening with or without medial thickening, intimal proliferation leading to luminal narrowing, muscular hypertrophy of the intima and media or increased deposition of collagen and elastin in the adventitia, several of these changes

often present concurrently. Significant media thickening had also been observed in asthmatic horses with severe form of the disease, supporting even more our previous hypothesis that severe respiratory diseases could have had an impact on PAR (Ceriotti et al., 2020).

A potential confounding factor that may have affected our capacity to demonstrate superior pulmonary arterial remodeling in cats with bronchiolar disorders through increased wall-to-lumen ratio scores or cross-sectional area is the extent of remodeling found in the control cats. This finding was however not entirely unexpected as medial hypertrophy and hyperplasia of pulmonary arteries and less frequently intimal proliferation has been reported in clinically normal cats in the absence of an underlying cause or even in specific-pathogen-free (SPF) cats (Hamilton, 1966a). In comparison to the study of Hamilton (1966), 4 out of 13 control cats had small pulmonary arterial wall thickness greater than luminal diameter, a proportion of cats similar to that obtained for cats without comorbid disease having received a grade 3 and higher (Hamilton, 1966a; Rogers et al., 1971). The presence of PAR lesions in our control group could indicate that these are a common finding in cats, reflecting normal anatomical differences between individuals (Browne et al., 2005; Maxie, 2015; Rogers et al., 1971). However, the level of severity found in some cats raises questions about the clinical impact of such lesions, if indeed they are widespread in the cat population.

Like humans with IPF (Gaikwad et al., 2022), we found structural alterations affecting arterial wall tunics that were specific to the vessel caliber. The most consistent finding was an increased fractional area of the adventitial layer of pulmonary arteries <1000  $\mu\text{m}$  in caliber in cats with BD. This range of caliber extends slightly beyond that reported in previous PAR studies in cats (Rogers et al., 1971) and in patients with IPF (Gaikwad et al., 2022) and contrary to the latter, was not accompanied by increased intimal proliferation. Adventitial thickening has previously been reported in humans with pulmonary hypertension (Chazova et al., 1995). In these instances, it is most associated with intimal and medial thickening and not reported as a sole feature of pulmonary vascular remodeling or in association with reduction of the other two tunics. In cats with BD, the adventitia occupied a greater proportion of the wall (11-12%) of the small and medium pulmonary arteries compared to control cats. In these cats, the adventitial tunic was on average thicker than the sum of the intima and medial fractional area combined. This contrasts with a study carried out in two cats reporting an adventitia in general 25% thinner than the intima and media tunics together

(Rhodin, 1978). The pathophysiology underlying adventitial thickening in cats with BD is unknown. The adventitia is normally comprised of collagen and elastin with sparse fibroblasts (Rhodin, 1978). In humans, two distinct processes have been proposed to explain pulmonary vascular remodeling. The “inside-out” process implies signals arising from the blood circulation affecting primarily the intima and the media. The second process, the “outside-in”, refers to signaling pathways emanating from the lung parenchyma and directed to the components of the adventitia (Chazova et al., 1995; Tuder, 2017). If, as speculated by others, the adventitia represents the driving force towards intimal proliferation and precedes processes in other tunics, the adventitial thickening in BD could indicate a similar outside-in type process in cats with BD. However, the evolution of this process through other tunics cannot be clearly understood by our results, as in most cases, cats were euthanized following the degradation of their conditions and might not have shown the entire process in their tissues. Further analyses are needed to confirm if this process is really happening in cats. Nevertheless, when comparing the patterns of pulmonary arterial remodeling of control cats versus cats with BD, the results of this study appear to show that spontaneous lesions in control cats without histologic evidence of cardiopulmonary disease causing vascular luminal obstruction are probably generated by different mechanisms than those producing the lesions observed in cats with bronchiolar disorders.

## **7. Limitations**

This study had some limitations. First, the absence of clinical history for some of the control cats (n=5) prevents from fully excluding potential comorbidities as a cause of pulmonary vascular remodeling in this group. While absence of obvious cardiac and pulmonary lesions served as inclusion criteria for the control group, pulmonary arterial lesions might have been present because of previous or occult parasitic infection, as some studies suggest (Dillon et al., 2017; Dillon et al., 2013; Hamilton, 1970) or because of unknown clinical pathology not identified during necropsy and histology.

Second, the small number of cats with BD may not reflect the entire spectrum of PAR in this group. Third, as a retrospective study, lung tissue was not necessarily obtained from the same location in each lung lobe. Finally, the limited quantity of tissues available might not have been representative of the whole lung, and thus, description of distribution of lesions in specific lobes was not possible.

## **8. – Conclusion**

In conclusion, pulmonary vascular remodeling was present in pulmonary arteries of cats with and without BD, possibly exposing anatomical deviations from normal in the cats' population. However, the pattern of PAR, characterized by significant adventitial thickening, observed in cats with BD was different than the control group having intimal and medial thickening leading to arterial luminal narrowing. Our results suggest a potential mechanism of PAR associated with BD in cats distinct from other previously reported conditions. The underlying mechanism driving remodeling of small and medium caliber pulmonary arteries in cats with bronchiolar disorders remains unknown.

## **9. – Acknowledgment**

We thank Mrs. Amy Porter for facilitating shipment and staining of histology slides between Michigan State University Diagnostic Laboratory and the Université de Montréal, and Dr Pierre Hélie, specialist in veterinary pathology, for his assistance in validating the absence of cardiac and pulmonary lesions in control cats other than those related to pulmonary arteries as described in this manuscript. We thank Dr Jean-Pierre Lavoie and his team for their insight during the project.

## **10. – Literature cited**

Barberà, J.A., Riverola, A., Roca, J., Ramirez, J., Wagner, P.D., Ros, D., Wiggs, B.R., Rodriguez-Roisin, R., 1994. Pulmonary vascular abnormalities and ventilation-perfusion relationships in mild chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 149, 423-429.

Boivin, G.P., Hickman, D.L., Creamer-Hente, M.A., Pritchett-Corning, K.R., Bratcher, N.A., 2017. Review of CO (2) as a Euthanasia Agent for Laboratory Rats and Mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 56, 491-499.

Cerioti, S., Bullone, M., Leclere, M., Ferrucci, F., Lavoie, J.P., 2020. Severe asthma is associated with a remodeling of the pulmonary arteries in horses. *PLoS One* 15, e0239561.

Chazova, I., Loyd, J.E., Zhdanov, V.S., Newman, J.H., Belenkov, Y., Meyrick, B., 1995a. Pulmonary artery adventitial changes and venous involvement in primary pulmonary hypertension. *Am J Pathol* 146, 389-397.



Chazova, I., Loyd, J.E., Zhdanov, V.S., Newman, J.H., Belenkov, Y., Meyrick, B., 1995b. Pulmonary artery adventitial changes and venous involvement in primary pulmonary hypertension. *The American journal of pathology* 146, 389-397.

Colombat, M., Mal, H., Groussard, O., Capron, F., Thabut, G., Jebrak, G., Brugiere, O., Dauriat, G., Castier, Y., Leseche, G., Fournier, M., 2007. Pulmonary vascular lesions in end-stage idiopathic pulmonary fibrosis: Histopathologic study on lung explant specimens and correlations with pulmonary hemodynamics. *Hum Pathol* 38, 60-65.

Dillon, A., Blagburn, B. L., Tillson, M., Brawner, W., Welles, B., Johnson, C., Cattley, R., Rynders, P., Barney, S., 2017. The progression of heartworm associated respiratory disease (HARD) in SPF cats 18 months after *Dirofilaria immitis* infection. *Parasites & vectors* 10, 225-235.

Dillon, A.R., Tillson, D. M., Hathcock, J., Brawner, B., Wooldridge, A., Cattley, R., Welles, B., Barney, S., Lee-Fowler, T., Botzman, L., Sermersheim, M., Garbarino, R., 2013. Lung histopathology, radiography, high-resolution computed tomography, and bronchio-alveolar lavage cytology are altered by *Toxocara cati* infection in cats and is independent of development of adult intestinal parasites. *Veterinary parasitology* 193, 413-426.

Evola, M.G., Edmondson, E.F., Reichle, J.K., Biller, D.S., Mitchell, C.W., Valdes-Martinez, A., 2014. Radiographic and histopathologic characteristics of pulmonary fibrosis in nine cats. *Vet Radiol Ultrasound* 55, 133-140.

Gaikwad, A.V., Lu, W., Dey, S., Bhattarai, P., Chia, C., Larby, J., Haug, G., Myers, S., Jaffar, J., Westall, G., Singhera, G.K., Hackett, T.L., Markos, J., Eapen, M.S., Sohal, S.S., 2022. Vascular remodelling in idiopathic pulmonary fibrosis patients and its detrimental effect on lung physiology: potential role of endothelial-to-mesenchymal transition. *ERJ Open Res* 8.

Hamilton, J., 1970. The influence of infestation by *Aelurostrongylus abstrusus* on the pulmonary vasculature of the cat. *British Veterinary Journal* 126, 202-209.

Hamilton, J.M., 1966. Pulmonary arterial disease of the cat. *J Comp Pathol* 76, 133-145.

Jaffey, J. A., Williams, K. J., Masseur, I., Krueger, M., Reinero, C., 2017. Vasoproliferative process resembling pulmonary capillary hemangiomas in a cat. *BMC Vet Res* 13, 72.

Magee, F., Wright, J.L., Wiggs, B.R., Pare, P.D., Hogg, J.C., 1988. Pulmonary vascular structure and function in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 43, 183-189.

McGettrick, M., Peacock, A., 2020. Group 3 pulmonary hypertension: Challenges and opportunities. *Glob Cardiol Sci Pract* 2020, e202006.

Port, C.D., Garvin, P.J., Ganote, C.E., Sawyer, D.C., 1978. Pathologic changes induced by an euthanasia agent. *Lab Anim Sci* 28, 448.

Reinero, C., 2019. Interstitial lung diseases in dogs and cats part I: The idiopathic interstitial pneumonias. *Vet J* 243, 48-54.

Reinero, C. R., Masseur, I., Grobman, M., Vientos-Plotts, A., Williams, K., 2019. Perspectives in veterinary medicine: Description and classification of bronchiolar disorders in cats. *J Vet Intern Med* 33, 1201-1221.

Rhodin, J. A., 1978. Microscopic anatomy of the pulmonary vascular bed in the cat lung. *Microvasc Res* 15, 169-193.

Rogers, W.A., Bishop, S.P., Rohousky, M. W., 1971. Pulmonary artery medial hypertrophy and hyperplasia in conventional and specific-pathogen-free cats. *Am J Vet Res* 32, 767-774.

Secrest, S.A., Bailey, M. Q., Williams, K.J., Smarick, S.D., 2008. Imaging diagnosis--Feline idiopathic pulmonary fibrosis. *Vet Radiol Ultrasound* 49, 47-50.

Simonneau, G., Robbins, I.M., Beghetti, M., Channick, R.N., Delcroix, M., Denton, C.P., Elliott, C.G., Gaine, S.P., Gladwin, M.T., Jing, Z.C., Krowka, M.J., Langleben, D., Nakanishi, N., Souza, R., 2009. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 54, S43-S54.

Stacher, E., Graham, B. B., Hunt, J.M., Gandjeva, A., Groshong, S.D., McLaughlin, V. V., Jessup, M., Grizzle, W. E., Aldred, M.A., Cool, C.D., Tuder, R.M., 2012. Modern age pathology of pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 186, 261-272.

Strange, G., Playford, D., Stewart, S., Deague, J.A., Nelson, H., Kent, A., Gabbay, E., 2012. Pulmonary hypertension: prevalence and mortality in the Armadale echocardiography cohort. *Heart* 98, 1805-1811.

Tuder, R.M., 2017. Pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Cell and tissue research* 367, 643-649.

Wright, J.L., Petty, T., Thurlbeck, W.M., 1992. Analysis of the structure of the muscular pulmonary arteries in patients with pulmonary hypertension and COPD: National Institutes of Health nocturnal oxygen therapy trial. *Lung* 170, 109-124.

Yen, R. T., Zhuang, F. Y., Fung, Y. C., Ho, H. H., Tremer, H., Sobin, S.S., 1984. Morphometry of cat's pulmonary arterial tree. *J Biomech Eng* 106, 131-136.

# Discussion générale

## 1. – Retour sur les résultats

### 1.1 Premier volet: *Echocardiographic systolic time intervals in cats with spontaneous respiratory diseases: a pilot study*

La première partie de ce mémoire, présentée au chapitre 2, s'est intéressée à l'utilisation des STIs (c.-à-d. AT, ET, AT : ET) pour l'évaluation indirecte de l'hémodynamie pulmonaire. Plus spécifiquement, nous visions tout d'abord à déterminer si les STIs sont influencés par la présence d'atteintes respiratoires et à corrélérer ces paramètres à ceux de l'estimation de la PAP, en plus d'évaluer l'impact des facteurs démographiques (c.-à-d. âge, poids, sexe) et de la fréquence cardiaque sur ceux-ci.

La mesure des STIs via l'échocardiographie s'est avérée possible chez tous les chats inclus dans l'étude clinique, et ce, même chez les chats pour lesquels la régurgitation tricuspидienne n'a pas pu être mesurée. Les manipulations et les conditions respiratoires des chats n'ont pas influencé la qualité des mesures échocardiographiques et la sédation n'a pas été jugée nécessaire chez aucun des chats inclus dans l'étude. De plus, l'âge, le poids corporel et le sexe, de même que les valeurs de fréquence cardiaque, ne semblent pas avoir d'influence sur les mesures de STIs, ce qui les rend d'autant plus attrayants.

Cependant, contrairement à notre hypothèse, nous n'avons pas observé de différence significative entre les deux groupes pour les mesures de STIs. Il est possible que les chats inclus aient eu des atteintes respiratoires qui ne sont pas associées à de l'hypoxie ou à des augmentations de la résistance vasculaire pulmonaire (ex. vasoconstriction, occlusion vasculaire à la suite de remodelage), et qui, par conséquent, n'affectent pas la postcharge et les temps d'accélération et d'éjection du flux dans le tronc pulmonaire. D'autre part, les valeurs d'AT, ET et AT : ET n'étaient pas corrélées avec les mesures de vitesse maximale de régurgitation tricuspидienne et pulmonaire. Ces résultats ne coïncident pas avec les résultats d'une étude réalisée chez les chiens ayant développé de PH à la suite de la maladie interstitielle fibrotique chronique des poumons. Cette étude avait révélé des réductions de valeurs d'AT et AT : ET chez ce groupe et avait montré une

spécificité de 87 % et une sensibilité de 73 % pour AT : ET et une spécificité de 80 % et une sensibilité de 88 % pour AT à prédire l'PH (Schober and Baade, 2006).

L'absence de différences significatives entre les chats contrôles et les chats atteints de maladies respiratoires pour la vitesse maximale de régurgitation tricuspidiennne pourrait suggérer que pour la majorité de ces chats, les maladies respiratoires chroniques dont ils souffraient, n'avaient que peu ou pas d'impact sur leur hémodynamie pulmonaire, ou bien que les chats possèdent des mécanismes compensateurs les préservant des modifications dans l'hémodynamie cardiaque droite. Cependant, un chat malade (chat #7, Table 3) avait une vitesse de TR de 4,3 m/s ce qui est supérieur à la normale théorique de 2,5 m/s ou de 2,7 m/s selon Vezzosi et Schober, 2019. Selon une définition qui serait exclusivement basée sur l'équation de Bernoulli (Figure 4), l'estimation de la PAP pour ce chat était de 83,07 mm Hg, soit nettement au-dessus des valeurs normales déterminées chez le chat via cathétérisme pulmonaire (Pypendop et al., 2017). De plus, ce chat présentait également des signes cliniques (toux chronique, détresse respiratoire, tirage) et échocardiographiques (dilatation de l'oreillette et du ventricule droit) concordant par extrapolation à des signes d'hypertension pulmonaire, tel que décrit dans le consensus de l'ACVIM pour la détermination de la probabilité d'hypertension pulmonaire chez le chien (Reinero et al., 2020). Les valeurs d'AT et AT : ET de ce patient étaient de 46,9 ms et 0,35 respectivement, soit plus basse que les valeurs moyennes rapportées chez 22 chats souffrants d'PH dû à une décompensation du cœur gauche (54 ms ; 0,41). Dans cette cohorte, seules les valeurs d'AT : ET étaient significativement diminuées par rapport aux chats en décompensation cardiaque gauche ne présentant pas de PH. Lors de la comparaison avec le groupe sain cependant, aucune différence significative n'a été identifiée, ce qui, selon l'auteur, rend la valeur clinique des STIs plutôt faibles pour prédire la probabilité de PH chez le chat (Vezzosi and Schober, 2019). Dans une autre étude, 50 chats en santé utilisés afin d'étudier l'influence de la dexmethédomidine sur les facteurs échocardiographiques ont obtenu une moyenne de temps d'accélération de 0,53 (0,41-0,58) avant leur sédation (Johard et al., 2018). Les valeurs d'AT et AT : ET de notre chat étant plus basses que celles rapportées dans la littérature chez des chats sains, on peut donc non seulement conclure que la présence de PH de groupe 3 est fortement suspectée chez ce chat, mais que les STIs peuvent probablement servir d'indicateur chez cette espèce lors de cas d'PH importante. Cela dit, un échantillon d'un seul chat n'est pas suffisamment représentatif de la population pour parler de tendance. Une étude avec des critères d'inclusion plus précis ciblant des chats affectés par des

atteintes respiratoires sévères et présentant, entre autres, une saturation en oxygène réduite au repos, des efforts inspiratoires et/ou expiratoires et du tirage thoracique est nécessaire pour tirer des conclusions probantes quant à l'utilisation des STIs dans l'estimation de la probabilité d'hypertension pulmonaire de groupe 3 chez le chat domestique.

Par ailleurs, l'historique médical étant accessible pour le chat #7, nous avons pu noter qu'il souffrait de toux chronique depuis l'âge de deux ans, celle-ci se dégradant quelques heures avant son hospitalisation au CHUV pour détresse respiratoire. Malgré les efforts de l'équipe médicale, sa condition s'est progressivement détériorée et l'euthanasie motivée par le mauvais pronostic et la condition de l'animal a été réalisée à la demande des propriétaires. Une nécropsie, effectuée par le Dr Kurt Williams, pathologiste vétérinaire accrédité par l'ACVP, a révélé qu'il était sévèrement atteint d'un désordre bronchiolaire primaire avec une composante sévère de maladie interstitielle du poumon. Cette observation nous a donc permis d'inclure ce chat dans le groupe BD du second projet afin d'évaluer l'histologie de ses artères pulmonaires.

En somme, ce premier volet a permis d'identifier un cas potentiel de PH de groupe 3 chez un chat du groupe expérimental et de caractériser l'hémodynamie pulmonaire chez des chats sains et de chats souffrant de maladies respiratoires chroniques via l'échocardiographie. Considérant l'absence d'influence des facteurs démographiques et de la fréquence cardiaque sur les STIs (AT, ET, AT : ET), ces paramètres ont un potentiel intéressant comme outil complémentaire. Leur piètre performance dans la capacité à prédire la vitesse maximale du jet de TR les rend cependant moins intéressants à l'heure actuelle pour l'évaluation de l'hémodynamie pulmonaire, en l'absence d'études corrélant les paramètres échocardiographiques à ceux obtenus lors de cathétérisme du cœur droit. Malgré l'absence de résultats significatifs entre les groupes, les valeurs obtenues pour les 20 différents paramètres mesurés s'ajoutent aux données échocardiographiques disponibles dans la littérature pour le chat domestique et contribueront certainement à l'avancement des connaissances dans le domaine de l'évaluation de l'hémodynamie pulmonaire féline.

## **1.2 Second volet: *Pulmonary arterial remodeling in cats with bronchiolar disorders***

Dans le cadre de la seconde partie de ce mémoire, les artères pulmonaires de chats atteints de désordres bronchiolaires ont été comparées à celles de chats ne démontrant pas d'atteintes cardiaques ou pulmonaires à l'histologie afin d'évaluer si l'incidence du remodelage artériel

pulmonaire était plus importante chez les chats touchés par les BD. De façon générale, le PAR, au sens strict d'épaississement notable de la paroi des artères, n'était pas significativement différent entre les deux groupes, validé par les valeurs de ratio paroi : lumière ainsi que de l'aire de la section transverse, et ce, pour toutes les catégories d'artères mesurées.

La première observation d'intérêt est que plus de la moitié (61 % ; 8/13) des chats contrôles montraient des lésions de remodelage de stage modéré à sévère (grade 2 à 5). Considérant la méthode de sélection des cas, nous ne pouvons exclure avec certitude que les chats, contrôles et expérimentaux, inclus dans notre étude n'aient été atteints d'une infection parasitaire occulte ou passée, non identifiée dans les sections histologiques examinées. Dans la littérature, on rapporte effectivement que des chats ayant été exposés à des infections cliniques et sous-cliniques comme *Toxocara cati* (Dillon et al., 2013), *Dirofilaria immitis* (Dillon et al., 2017) et *Aelurostrongylus abstrusus* (Hamilton, 1970) peuvent développer du RVP qui persiste dans le temps malgré une résolution de l'infection et l'absence d'agents parasitaires à l'histologie.

Cela dit, la présence de remodelage chez le groupe contrôle, sous forme d'hyperplasie et d'hypertrophie de la média, était attendue. Lors d'une étude caractérisant le RVP chez le chat, la présence de lésions a été identifiée chez des individus souffrants de conditions autres que les parasitoses (ex. : néphrite, lymphosarcomes, entérites, néoplasmes, etc.). De plus, près de 54 % des chats présentant des lésions de RVP ne souffraient d'aucune condition apparente (Hamilton, 1966b). Un autre auteur a identifié des lésions de RVP chez plus de 50 % des chats SFP inclus dans son étude, l'amenant à conclure que la présence de ces lésions peut être attribuable à un processus génétique ou naturel pour l'espèce féline, et non à une infection parasitaire (Rogers et al., 1971). Malgré ces écrits, aucune étude ne semble s'être penchée sur les mécanismes menant à l'apparition spontanée de lésions vasculaires pulmonaires chez le chat exempt de parasites. Ces résultats, alliés aux nôtres, pourraient indiquer la présence de déviations anatomiques par rapport à la normale dans la population féline, mais d'autres études seront nécessaires pour faire la lumière sur l'apparition de telles lésions et les mécanismes sous-jacents.

La seconde trouvaille d'intérêt n'est pas reflétée par les valeurs de ratio paroi : lumière et aire transverse de la paroi. En effet, grâce à la mesure de l'aire de la section transverse des différentes tuniques composant la paroi des artères, nous avons pu observer des changements significatifs dans la proportion de la paroi occupée par chacune des tuniques entre les groupes. Chez les chats du

groupe contrôle, la média des artères de petit calibre était significativement plus épaisse que celle des chats avec désordres bronchiolaires, de même que l'intima des artères moyennes. Cependant, l'adventice des chats avec désordres bronchiolaires montrait un processus de remodelage significativement plus important au niveau des petites et moyennes artères. Bien que la sévérité des lésions ne soit pas discernable entre les groupes, ces résultats laissent croire que le processus de remodelage chez les chats atteints de BD est spécifique à cette condition, affectant davantage l'adventice que les autres tuniques.

Chez l'humain, le processus menant à des lésions de RVP a longtemps été considéré comme provenant de la circulation sanguine via le recrutement de cellules inflammatoires dans l'intima. L'endothélium, répondant à une blessure ou un stress (ex. : étirement de la paroi à la suite d'une augmentation de la PAP) sécrèterait des médiateurs inflammatoires et des molécules d'adhésion de surface, permettant le recrutement de leucocytes et monocytes circulants, afin de les faire entrer dans le tissu intimal. S'en suivrait leur migration au niveau de la média, induisant de l'hypertrophie et de l'hyperplasie via des facteurs de croissance et d'autres médiateurs inflammatoires tels que les cytokines.

Récemment, plusieurs études se sont penchées sur le rôle de l'adventice comme initiatrice du processus inflammatoire dans les vaisseaux humains (Stenmark et al., 2011). En effet, lors d'hypoxie, les fibroblastes résidents s'activeraient, menant à leur prolifération et leur différenciation en myofibroblastes via l'expression d' $\alpha$ -SMA, en plus de produire des cytokines et chémorécepteurs recrutant les cellules inflammatoires circulantes (Smith et al., 1997). Chez les rats et les veaux modèles de l'PH lors d'hypoxie chronique, certaines de ces cellules circulantes, nommées fibrocytes, sont recrutées et activées. Ces cellules mésenchymateuses résultant de précurseurs de monocytes possèdent une plasticité et des fonctions similaires aux macrophages et aux fibroblastes résidents dans l'adventice. La combinaison de l'action des fibrocytes et des fibroblastes résidents au niveau de l'adventice amène donc à repenser le processus, soit un mécanisme provenant de l'extérieur du vaisseau et non l'inverse (Frid et al., 2006).

À la connaissance des auteurs, aucune étude ne rapporte du remodelage affectant exclusivement l'adventice. Cependant, la néovascularisation dans l'adventice et l'augmentation de la densité du *vasa vasorum* serait une réaction à l'hypoxie chronique et précéderait l'apparition de remodelage dans les autres tuniques (c.-à-d. intima et média) chez des veaux atteints de la maladie du poitrail



(e.g Brisket), une maladie respiratoire liée au développement de l'hypertension pulmonaire de groupe 3 chez les bovins lors d'hypoxie induite par de longs séjours en altitude (Davie et al., 2004). De plus, plusieurs processus cellulaires, qui sont hors du cadre de ce mémoire, ont été mis en lumière chez les bovins, rappelant le rôle important du *vasa vasorum* dans la signalisation cellulaire et les réactions inflammatoires au niveau vasculaire (Davie et al., 2006; Newman et al., 2011). De telles études n'ont pas été conduites chez le chat, mais les résultats d'études réalisées chez les autres espèces permettent d'émettre l'hypothèse selon laquelle l'hypoxie pourrait effectivement mener à des processus spécifiques de remodelage au niveau de l'adventice chez l'espèce féline et pourrait potentiellement expliquer la présence de remodelage plus important de l'adventice chez les chats atteints de désordres bronchiolaires.

En somme, ce second volet a permis de documenter la réponse des vaisseaux face à une atteinte des bronchioles, qu'elle soit primaire ou secondaire. Malgré la présence de remodelage chez un nombre important de chats, tant contrôles qu'expérimentaux, les résultats obtenus montrent que les BD entraînent un remodelage différent de celui observé lors de lésions spontanées. Davantage d'études devront être faites pour comprendre les mécanismes sous-jacents.

### **1.3 Lien entre les projets**

Le lien potentiel entre le RVP et les changements hémodynamiques dans le contexte d'atteinte respiratoire n'est pas entièrement élucidé. Cette relation complexe est d'autant plus reflétée par l'un des sujets de nos études. Dans notre étude hémodynamique, le chat expérimental #7 avait une valeur estimée de sPAP et de résistance vasculaire pulmonaire dépassant largement celle du groupe contrôle clinique. Par ailleurs, ce chat ne présentait qu'un léger épaissement au niveau de l'adventice de deux des treize vaisseaux mesurés chez cet individu, ce qui est très peu de remodelage comparativement aux autres chats avec désordres bronchiolaires. Les changements hémodynamiques, basés sur la vitesse de la régurgitation tricuspidiennne, ne s'expliqueraient pas par la présence de lésions vasculaires de type occlusives (ex. épaissement de la paroi menant à une occlusion de la lumière). Il est cependant possible que la détresse respiratoire de ce chat ait induit une réponse de vasoconstriction, telle que décrite à la section 1.4, augmentant la PVR de façon significative et induisant une élévation aiguë de la PAP, expliquant l'absence de lésions vasculaires et la décompensation de l'animal.

La littérature ne contient que très peu d'information sur un lien potentiel entre l'hémodynamie pulmonaire et le RVP chez le chat. Une seule étude s'est penchée sur le phénomène, dans laquelle l'auteur conclut à un possible mécanisme de compensation hémodynamique basé sur la réduction du volume d'éjection ventriculaire droit afin de limiter les conséquences d'une élévation de la PVR lors de lésions vasculaires (Rogers et al., 1971). Cependant, une réduction importante du volume d'éjection pourrait avoir de graves conséquences en amont, similaire à une insuffisance cardiaque droite (ex. ascite) via une accumulation de sang et une élévation de la pression dans le système veineux systémique (Boon, 2011). Le volume d'éjection ventriculaire droit n'ayant pas été mesuré lors de notre étude clinique, il serait tout de même intéressant de se pencher sur cette valeur lors d'études futures afin de valider cette hypothèse, ou encore, identifier un autre mécanisme potentiel de résistance aux changements hémodynamiques chez le chat. De plus, le nombre de lésions nécessaires pour induire des signes cliniques chez le chat est également inconnu. Chez l'humain, tel que mentionné à la section 3.4.1, il est estimé que plus de 80 % des vaisseaux pulmonaires doivent être remodelés afin d'induire des signes cliniques hémodynamiques. Des études sont nécessaires afin d'établir cette proportion chez le chat.

Finalement, les lésions de remodelage s'effectuant initialement au niveau de l'adventice et n'affectant pas le diamètre de la lumière, est un phénomène observé chez l'humain, tant au niveau systémique (Glagov et al., 1987) que pulmonaire (Wright et al., 2005). Ce phénomène aurait pour effet de nuire à la compliance des vaisseaux, mais pas de façon suffisamment importante pour induire une élévation de la PVR qui aurait pour effet d'augmenter la PAP.

Dans le cas de notre étude, la mesure du ratio paroi : lumière permet de valider la présence ou l'absence de remodelage hypertrophique, qu'il soit vers l'intérieur ou l'extérieur. Cela dit, la distinction entre les deux processus ne peut pas se baser uniquement sur la valeur de ce ratio, car dans les deux situations, la valeur du ratio sera augmentée. Ce qui explique probablement l'absence de différences entre les valeurs de ratio des chats BD et témoins. Il incombe donc de valider de manière qualitative ou quantitative où se trouvent les lésions, par exemple en mesurant l'aire fractionnaire des tuniques, afin d'en faire la distinction et cibler quelle tunique est majoritairement affectée. Ce genre d'approche permettrait de prendre en compte le remodelage extérieur lors d'études subséquentes sur le remodelage vasculaire pulmonaire afin de mieux comprendre sa source et ses conséquences.

## 2. – Limites

Dans le premier volet, nos critères d'inclusion étaient très larges, à savoir un historique d'atteinte respiratoire chronique (>1 mois), des signes cliniques respiratoires peu spécifiques et des tests diagnostiques (c.-à-d. radiographies thoraciques) peu sensibles et peu spécifiques. Il est donc difficile de déterminer avec précision la nature des atteintes respiratoires des chats expérimentaux, limitant les conclusions de notre étude. L'absence de tomodensitométrie thoracique et d'échantillonnage des voies respiratoires via lavage broncho-alvéolaire pour cytologie et culture ainsi que d'examen histopathologique des tissus pulmonaires ne permet pas de préciser les affections respiratoires que ces chats avaient. Les biopsies pulmonaires sont peu répandues en médecine féline par leur nature invasive et les coûts associés à la procédure chirurgicale. D'autre part, la sévérité des signes cliniques présents chez les chats malades variait également beaucoup, allant de toux chronique contrôlée médicalement à la détresse respiratoire. Il est possible que certains chats aient des conditions relativement bien contrôlées ou de sévérité trop légère pour induire des changements significatifs sur la circulation pulmonaire.

Dans l'optique où il serait possible d'évaluer les STIs chez un groupe de chats présentant des signes cliniques respiratoires sévères, il est possible que des altérations hémodynamiques soient davantage identifiées comparativement à notre groupe de chats malades. L'identification plus précise du diagnostic nécessite une investigation clinique poussée, laquelle est souvent associée à des risques plus élevés pour les animaux et des coûts plus importants pouvant être prohibitifs pour les propriétaires. Dans certains cas, le diagnostic repose sur l'examen histopathologique offrant peu d'options diagnostiques ante mortem. Ce type d'étude est donc plus difficilement réalisable dans un contexte de pratique vétérinaire féline.

Une limite additionnelle à notre première étude était le faible nombre de chats inclus, couplé au nombre important de paramètres analysés. Ces deux conditions réunies pourraient avoir influencé la puissance statistique de nos résultats. En effet, une puissance statistique faible peut mener à de faux négatifs et masquer des résultats significatifs. Un test a posteriori a été effectué, déterminant le nombre total de chats à un minimum de 30 afin d'obtenir une puissance statistique suffisante pour déceler la présence de corrélations et de différences significatives entre les groupes.

Finalement, l'absence de mesure étalon de la PAP via cathétérisme du cœur droit ne nous permet pas de corrélérer avec certitude les résultats obtenus avec le statut hémodynamique des chats étudiés.

Dans le second volet, la sélection des tissus contrôles était presque exclusivement basée sur les rapports de nécropsie avec peu ou sans données cliniques. Il aurait été souhaitable d'utiliser des chats ayant eu des examens échocardiographiques et dont les données médicales étaient connues. L'absence d'historique médical complet pour les chats du groupe contrôle ne nous permet pas d'exclure avec certitude l'absence d'infection parasitaire ou autres comorbidités pouvant expliquer la forte prévalence de lésions vasculaires au sein du groupe contrôle. Cette absence limite en partie les conclusions que nous pouvons tirer de nos résultats.

Enfin, l'aspect rétrospectif de cette étude pour l'obtention des tissus pulmonaires ne nous a pas permis de procéder à une méthode standardisée pour la sélection des tissus. Il était parfois difficile de déterminer l'exacte localisation de la lésion en termes de lobe pulmonaire d'origine et au sein du parenchyme de ce même lobe. L'analyse était aussi effectuée sur une coupe très mince du poumon et il est possible que cette coupe n'ait pas été représentative du poumon entier d'un animal donné. Il aurait été intéressant de voir si un ou des lobes en particulier sont davantage affectés et comment les lésions sont distribuées à travers tout le poumon.

## Conclusion

Ce projet de maîtrise comprenait deux études ayant pour thème central l'impact d'une atteinte respiratoire sur la circulation pulmonaire des chats domestiques. La première étude visait à valider une méthode clinique échocardiographique pour évaluer l'hémodynamie pulmonaire du chat domestique atteint de maladies respiratoires chroniques en explorant l'utilité de paramètres échocardiographiques complémentaires à la vitesse maximale de régurgitation tricuspiddienne qui n'est pas toujours mesurable chez le chat. Le second projet avait pour but de quantifier les lésions de remodelage vasculaire pulmonaire chez des chats atteints de désordres bronchiolaires afin de déterminer si celles-ci étaient plus importantes chez ces chats comparativement à un groupe contrôle ne présentant pas d'anomalies respiratoires ou cardiaques à l'histologie.

La première étude a permis de vérifier que les STIs pouvaient être mesurés aisément chez la population féline, nos examens échocardiographiques nous procurant des valeurs pour chacun des sujets. Cependant, nos résultats n'ont pas pu être corrélés aux valeurs de vitesse maximale de TR, qui elles, sont utilisées pour l'estimation de la PAP chez cette espèce. Parmi les explications possibles, nous avons proposé un nombre sous-optimal de chats inclus et la possibilité que le large spectre de conditions ait masqué des changements hémodynamiques qui ne surviendraient qu'avec un nombre restreint de conditions respiratoires spécifiques et/ou lors d'atteinte clinique sévère. Cette dernière possibilité est appuyée par la présence d'hypertension pulmonaire chez l'un de nos chats malades chez lesquels les signes cliniques étaient très marqués.

Comme d'autres études l'ont montré il y a plusieurs décennies, la deuxième étude a révélé la présence de lésions de remodelage vasculaire pulmonaire chez des chats exempts d'atteintes pulmonaire et cardiaque à l'histologie. Bien que ces lésions aient été observées fréquemment chez le chat, la cause de leur apparition et les mécanismes menant à leur développement demeurent inconnus, offrant plusieurs avenues de recherche. Par ailleurs, il serait intéressant de démontrer si comme chez l'humain, un nombre seuil de lésions vasculaires pulmonaires à partir duquel des signes cliniques sont généralement manifestés ou au contraire si les lésions de RVP, même sévères, n'ont pas tendance à générer des modifications hémodynamiques significatives, auquel cas l'identification d'un mécanisme protecteur pourrait s'avérer pertinente d'un point de vue de comparaison interspèces. De plus, l'expression du RVP chez les chats expérimentaux de cette cohorte indique des signes compatibles avec un remodelage dirigé de l'extérieur vers l'intérieur

des vaisseaux, soit une adventice significativement épaissie par rapport aux contrôles et la présence de cellules en grande quantité dans les tissus conjonctifs de cette dernière. Il est possible que ces changements découlent d'un mécanisme similaire au RVP présent chez les humains atteints de conditions respiratoires, mais d'autres études sont nécessaires afin de confirmer cette hypothèse.

En conclusion, les études décrites dans ce mémoire de maîtrise pavent la voie pour de futures recherches qui amélioreront notre compréhension des relations entre l'hémodynamique pulmonaire, le remodelage vasculaire pulmonaire et les conditions respiratoires du chat domestique. Considérant les contraintes éthiques et les ressources importantes nécessaires pour mener des études cliniques, une future approche pourrait consister en une étude rétrospective de tissus pulmonaires de chats affectés par des atteintes respiratoires, dont l'historique médical est disponible et ayant subi une échocardiographie *ante mortem*. Une telle étude demanderait du temps et une possible collaboration entre plusieurs centres de diagnostics afin de réunir un nombre suffisant de cas, mais pourrait permettre de mettre en évidence des tendances entre l'hémodynamique pulmonaire et les lésions de RVP, permettant une meilleure analyse clinique et, potentiellement, à terme, une amélioration du pronostic des chats atteints de maladies respiratoires chroniques.

## Références

- Acierno, M.J., Brown, S., Coleman, A.E., Jepson, R.E., Papich, M., Stepien, R.L., Syme, H.M., 2018. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *Journal of veterinary internal medicine* 32, 1803-1822.
- Adin, D.B., McCloy, K., 2005. Physiologic valve regurgitation in normal cats. *Journal of Veterinary Cardiology* 7, 9-13.
- Akabane, R., Shimano, S., Sakatani, A., Ogawa, M., Nagakawa, M., Miyakawa, H., Miyagawa, Y., Takemura, N., 2019. Relationship between right heart echocardiographic parameters and invasive pulmonary artery pressures in canine models of chronic embolic pulmonary hypertension. *J Vet Med Sci* 81, 1485-1491.
- Al-Tinawi, A., Madden, J.A., Dawson, C.A., Linehan, J.H., Harder, D.R., Rickaby, D.A., 1991. Distensibility of small arteries of the dog lung. *Journal of Applied Physiology* 71, 1714-1722.
- Anand, I.S., 1994. Hypoxia and the pulmonary circulation. *Thorax* 49, S19-S24.
- Aoki, T., Sugimoto, K., Sunahara, H., Fujii, Y., 2012. Patent ductus arteriosus ligation in two young cats with pulmonary hypertension. *Journal of Veterinary Medical Science* 75, 12-0322.
- Bancroft, J.D., Layton, C., 2019. 10 - The hematoxylin and eosin, In: *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques (Eighth Edition)*. Content Repository Only!, pp. 126-138.
- Banks, W.J., 1981. *Applied Veterinary Histology*. Mosby-Year Book.
- Barberà, J.A., Riverola, A., Roca, J., Ramirez, J., Wagner, P.D., Ros, D., Wiggs, B.R., Rodriguez-Roisin, R., 1994. Pulmonary vascular abnormalities and ventilation-perfusion relationships in mild chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 149, 423-429.
- Baron Toaldo, M., Guglielmini, C., Diana, A., Giunti, M., Dondi, F., Cipone, M., 2011. Reversible pulmonary hypertension in a cat. *Journal of Small Animal Practice* 52, 271-277.
- Beard II, J.T., Newman, J.H., Loyd, J.E., Byrd III, B.F., 1991. Doppler estimation of changes in pulmonary artery pressure during hypoxic breathing. *Journal of the American Society of Echocardiography* 4, 121-130.
- Biasato, I., Tursi, M., Zanet, S., Longato, E., Capucchio, M.T., 2017. Pulmonary artery dissection causing haemothorax in a cat: potential role of *Dirofilaria immitis* infection and literature review. *Journal of Veterinary Cardiology* 19, 82-87.

Boivin, G.P., Hickman, D.L., Creamer-Hente, M.A., Pritchett-Corning, K.R., Bratcher, N.A., 2017. Review of CO(2) as a Euthanasia Agent for Laboratory Rats and Mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 56, 491-499.

Boon, J.A., 2011. *Veterinary Echocardiography*, 2nd edition ed. John Wiley & Sons.

Brown, D., Knight, D., King, R., 1991. Use of pulsed-wave Doppler echocardiography to determine aortic and pulmonary velocity and flow variables in clinically normal dogs. *American journal of veterinary research* 52, 543-550.

Browne, L.E., Carter, T.D., Levy, J.K., Snyder, P.S., Johnson, C.M., 2005. Pulmonary arterial disease in cats seropositive for *Dirofilaria immitis* but lacking adult heartworms in the heart and lungs. *American journal of veterinary research* 66, 1544-1549.

Cerioti, S., Bullone, M., Leclere, M., Ferrucci, F., Lavoie, J.P., 2020. Severe asthma is associated with a remodeling of the pulmonary arteries in horses. *PLoS One* 15, e0239561.

Chazova, I., Loyd, J.E., Zhdanov, V.S., Newman, J.H., Belenkov, Y., Meyrick, B., 1995. Pulmonary artery adventitial changes and venous involvement in primary pulmonary hypertension. *The American journal of pathology* 146, 389-397.

Colombat, M., Mal, H., Groussard, O., Capron, F., Thabut, G., Jebrak, G., Brugiere, O., Dauriat, G., Castier, Y., Leseche, G., Fournier, M., 2007. Pulmonary vascular lesions in end-stage idiopathic pulmonary fibrosis: Histopathologic study on lung explant specimens and correlations with pulmonary hemodynamics. *Hum Pathol* 38, 60-65.

Davie, N.J., Crossno Jr, J.T., Frid, M.G., Hofmeister, S.E., Reeves, J.T., Hyde, D.M., Carpenter, T.C., Brunetti, J.A., McNiece, I.K., Stenmark, K.R., 2004. Hypoxia-induced pulmonary artery adventitial remodeling and neovascularization: contribution of progenitor cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 286, L668-L678.

Davie, N.J., Gerasimovskaya, E.V., Hofmeister, S.E., Richman, A.P., Jones, P.L., Reeves, J.T., Stenmark, K.R., 2006. Pulmonary artery adventitial fibroblasts cooperate with vasa vasorum endothelial cells to regulate vasa vasorum neovascularization: a process mediated by hypoxia and endothelin-1. *The American journal of pathology* 168, 1793-1807.

Davis, A., Khorzad, R., Whelan, M., 2013. Dynamic upper airway obstruction secondary to severe feline asthma. *Journal of the American Animal Hospital Association* 49, 142-147.

Dennler, M., Bass, D.A., Gutierrez-Crespo, B., Schnyder, M., Guscetti, F., Di Cesare, A., Deplazes, P., Kircher, P.R., Glaus, T.M., 2013. Thoracic computed tomography, angiographic computed



tomography, and pathology findings in six cats experimentally infected with *Aelurostrongylus abstrusus*. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 54, 459-469.

Dillon, A., Blagburn, B.L., Tillson, M., Brawner, W., Welles, B., Johnson, C., Cattley, R., Rynders, P., Barney, S., 2017. The progression of heartworm associated respiratory disease (HARD) in SPF cats 18 months after *Dirofilaria immitis* infection. *Parasites & vectors* 10, 225-235.

Dillon, A.R., Tillson, D.M., Hathcock, J., Brawner, B., Wooldridge, A., Cattley, R., Welles, B., Barney, S., Lee-Fowler, T., Botzman, L., Sermersheim, M., Garbarino, R., 2013. Lung histopathology, radiography, high-resolution computed tomography, and bronchio-alveolar lavage cytology are altered by *Toxocara cati* infection in cats and is independent of development of adult intestinal parasites. *Veterinary parasitology* 193, 413-426.

Dirven, M., Szatmári, V., van den Ingh, T., Nijse, R., 2012. Reversible pulmonary hypertension associated with lungworm infection in a young cat. *J Vet Cardiol* 14, 465-474.

Evola, M.G., Edmondson, E.F., Reichle, J.K., Biller, D.S., Mitchell, C.W., Valdés-Martínez, A., 2014. Radiographic and histopathologic characteristics of pulmonary fibrosis in nine cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 55, 133-140.

Fitzgerald, R.S., Dehghani, G.A., Kiihl, S., 2013. Autonomic control of the cardiovascular system in the cat during hypoxemia. *Auton Neurosci* 174, 21-30.

Frid, M.G., Brunetti, J.A., Burke, D.L., Carpenter, T.C., Davie, N.J., Reeves, J.T., Roedersheimer, M.T., van Rooijen, N., Stenmark, K.R., 2006. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling requires recruitment of circulating mesenchymal precursors of a monocyte/macrophage lineage. *Am J Pathol* 168, 659-669.

Gaikwad, A.V., Lu, W., Dey, S., Bhattarai, P., Chia, C., Larby, J., Haug, G., Myers, S., Jaffar, J., Westall, G., Singhera, G.K., Hackett, T.L., Markos, J., Eapen, M.S., Sohal, S.S., 2022. Vascular remodelling in idiopathic pulmonary fibrosis patients and its detrimental effect on lung physiology: potential role of endothelial-to-mesenchymal transition. *ERJ Open Res* 8.

Glagov, S., Weisenberg, E., Zarins, C.K., Stankunavicius, R., Kolettis, G.J., 1987. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *New England Journal of Medicine* 316, 1371-1375.

Glaus, T.M., Tomsa, K., Hässig, M., Reusch, C., 2004. Echocardiographic changes induced by moderate to marked hypobaric hypoxia in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 45, 233-237.

Hamilton, J., 1970. The influence of infestation by *Aelurostrongylus abstrusus* on the pulmonary vasculature of the cat. *British Veterinary Journal* 126, 202-209.

Hamilton, J.M., 1966a. Pulmonary arterial disease of the cat. *J Comp Pathol* 76, 133-145.

Hamilton, J.M., 1966b. Pulmonary arterial disease of the cat. *Journal of Comparative Pathology* 76, 133-145.

Heath, D., Edwards, J.E., 1958. The pathology of hypertensive pulmonary vascular disease: a description of six grades of structural changes in the pulmonary arteries with special reference to congenital cardiac septal defects. *Circulation* 18, 533-547.

Hoepfer, M.M., Bogaard, H.J., Condliffe, R., Frantz, R., Khanna, D., Kurzyna, M., Langleben, D., Manes, A., Satoh, T., Torres, F., Wilkins, M.R., Badesch, D.B., 2013. Definitions and diagnosis of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 62, D42-50.

Jaffey, J.A., Wiggen, K., Leach, S.B., Masseur, I., Girens, R.E., Reinero, C.R., 2019. Pulmonary hypertension secondary to respiratory disease and/or hypoxia in dogs: Clinical features, diagnostic testing and survival. *Vet J* 251, 105347.

Jaffey, J.A., Williams, K.J., Masseur, I., Krueger, M., Reinero, C., 2017. Vasoproliferative process resembling pulmonary capillary hemangiomatosis in a cat. *BMC Vet Res* 13, 72.

Jenkins, T.L., Jennings, R.N., 2017. Pulmonary capillary hemangiomatosis and hypertrophic cardiomyopathy in a Persian cat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 29, 900-903.

Johard, E., Tidholm, A., Ljungvall, I., Häggström, J., Höglund, K., 2018. Effects of sedation with dexmedetomidine and buprenorphine on echocardiographic variables, blood pressure and heart rate in healthy cats. *J Feline Med Surg* 20, 554-562.

Kirberger, R.M., Bland-vanden Berg, P., Darazs, B., 1992. Doppler echocardiography in the normal dog: Part I Velocity findings and flow patterns. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 33, 370-379.

Kircher, B.J., Himelman, R.B., Schiller, N.B., 1990. Noninvasive estimation of right atrial pressure from the inspiratory collapse of the inferior vena cava. *Am J Cardiol* 66, 493-496.

MacPhail, C.M., Innocenti, C.M., Kudnig, S.T., Veir, J.K., Lappin, M.R., 2007a. Atypical manifestations of feline inflammatory polyps in three cats. *Journal of feline medicine and surgery* 9, 219-225.

MacPhail, C.M., Innocenti, C.M., Kudnig, S.T., Veir, J.K., Lappin, M.R., 2007b. Atypical manifestations of feline inflammatory polyps in three cats. *J Feline Med Surg* 9, 219-225.

Magee, F., Wright, J.L., Wiggs, B.R., Pare, P.D., Hogg, J.C., 1988. Pulmonary vascular structure and function in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 43, 183-189.

Mandel, J., Taichman, D., 2006. *Pulmonary Vascular Disease*. Saunders Elsevier.

Maxie, M.G., 2015. *Jubb, Kennedy & Palmer's pathology of domestic animals: volume 3, 6 e edition ed.* Elsevier health sciences.

McGettrick, M., Peacock, A., 2020. Group 3 pulmonary hypertension: Challenges and opportunities. *Glob Cardiol Sci Pract* 2020, e202006.

Miller, W.T., Jr., Chatzkel, J., Hewitt, M.G., 2014. Expiratory air trapping on thoracic computed tomography. A diagnostic subclassification. *Ann Am Thorac Soc* 11, 874-881.

Morrell, N.W., 2014. *Pulmonary Circulation*, In: *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier.

Nagasaka, Y., Bhattacharya, J., Nanjo, S., Gropper, M.A., Staub, N.C., 1984. Micropuncture measurement of lung microvascular pressure profile during hypoxia in cats. *Circ Res* 54, 90-95.

Newman, J.H., Holt, T.N., Hedges, L.K., Womack, B., Memon, S.S., Willers, E.D., Wheeler, L., Phillips III, J.A., Hamid, R., 2011. High-altitude pulmonary hypertension in cattle (brisket disease): candidate genes and gene expression profiling of peripheral blood mononuclear cells. *Pulmonary circulation* 1, 462-469.

Olcott, C.T., Saxton, J.A., Modell, W., 1946. Medial Hyperplasia in Pulmonary Arteries of Cats. *The American journal of pathology* 22, 847.

Opotowsky, A.R., Clair, M., Afilalo, J., Landzberg, M.J., Waxman, A.B., Moko, L., Maron, B.A., Vaidya, A., Forfia, P.R., 2013. A simple echocardiographic method to estimate pulmonary vascular resistance. *Am J Cardiol* 112, 873-882.

Padrid, P., 2009. Chronic bronchitis and asthma in cats. *Current veterinary therapy. XIV*. Philadelphia: WB Saunders, 650-658.

Panopoulos, I., Auriemma, E., Specchi, S., Diana, A., Pietra, M., Papastefanou, A., Zini, E., Cipone, M., 2019. 64-multidetector CT anatomical assessment of the feline bronchial and pulmonary vascular structures. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 21, 893-901.

Pasquini, S., 2003. *Anatomy of Domestic Animals : Systemic and Regional Approach*, 10th ed.

Port, C.D., Garvin, P.J., Ganote, C.E., Sawyer, D.C., 1978. Pathologic changes induced by an euthanasia agent. *Lab Anim Sci* 28, 448.

Pypendop, B.H., Barter, L.S., Pascoe, P.J., Ranasinghe, M.G., Pasloske, K., 2019. Hemodynamic effects of subclinical, clinical and supraclinical plasma alfaxalone concentrations in cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 46, 597-604.

Pypendop, B.H., Honkavaara, J., Ilkiw, J.E., 2017. Cardiovascular effects of dexmedetomidine, with or without MK-467, following intravenous administration in cats. *Vet Anaesth Analg* 44, 52-62.

Ravaglia, C., Poletti, V., 2020. Bronchiolitis and Bronchiolar Disorders. *Semin Respir Crit Care Med* 41, 311-332.

Rawlings, C.A., 1990. Pulmonary arteriography and hemodynamics during feline heartworm disease: effect of aspirin. *Journal of veterinary internal medicine* 4, 285-291.

Reinero, C., 2019a. Interstitial lung diseases in dogs and cats part I: The idiopathic interstitial pneumonias. *Vet J* 243, 48-54.

Reinero, C., 2019b. Interstitial lung diseases in dogs and cats part II: Known cause and other discrete forms. *Vet J* 243, 55-64.

Reinero, C., Visser, L.C., Kellihan, H.B., Masseau, I., Rozanski, E., Clercx, C., Williams, K., Abbott, J., Borgarelli, M., Scansen, B.A., 2020. ACVIM consensus statement guidelines for the diagnosis, classification, treatment, and monitoring of pulmonary hypertension in dogs. *J Vet Intern Med* 34, 549-573.

Reinero, C.R., Masseau, I., Grobman, M., Vientos-Plotts, A., Williams, K., 2019a. Perspectives in veterinary medicine: Description and classification of bronchiolar disorders in cats. *J Vet Intern Med* 33, 1201-1221.

Reinero, C.R., Masseau, I., Grobman, M., Vientos-Plotts, A., Williams, K., 2019b. Perspectives in veterinary medicine: Description and classification of bronchiolar disorders in cats. *Journal of veterinary internal medicine* 33, 1201-1221.

Rhinehart, J., Schober, K., Scansen, B., Yildiz, V., Bonagura, J., 2017. Effect of body position, exercise, and sedation on estimation of pulmonary artery pressure in dogs with degenerative atrioventricular valve disease. *Journal of veterinary internal medicine* 31, 1611-1621.

Rhodin, J.A., 1978. Microscopic anatomy of the pulmonary vascular bed in the cat lung. *Microvasc Res* 15, 169-193.

Rogers, W., Bishop, S., Rohousky, M., 1971. Pulmonary artery medial hypertrophy and hyperplasia in conventional and specific-pathogen-free cats. *American journal of veterinary research* 32, 767.

Ross, M.H.P., W., 2006. *Histology: A Text and Atlas : with Correlated Cell and Molecular Biology*, In: *Histology: A Text and Atlas : with Correlated Cell and Molecular Biology*, 7th edition ed, Baltimore.

Russell, D., Scansen, B., Himmel, L., 2015. Plexogenic pulmonary arteriopathy in a cat with non-restrictive ventricular septal defect and chronic pulmonary hypertension. *Journal of Small Animal Practice* 56, 524-529.

Ryu, J.H., Myers, J.L., Swensen, S.J., 2003. Bronchiolar disorders. *Am J Respir Crit Care Med* 168, 1277-1292.

Schneider, M., Ran, H., Pistrutto, A.M., Gerges, C., Heidari, H., Nitsche, C., Gerges, M., Hengstenberg, C., Mascherbauer, J., Binder, T., Lang, I., Goliash, G., 2020. Pulmonary artery to ascending aorta ratio by echocardiography: A strong predictor for presence and severity of pulmonary hypertension. *PLoS One* 15, e0235716.

Schober, K.E., Baade, H., 2006. Doppler echocardiographic prediction of pulmonary hypertension in West Highland white terriers with chronic pulmonary disease. *Journal of veterinary internal medicine* 20, 912-920.

Schober, K.E., Fuentes, V.L., Bonagura, J.D., 2003. Comparison between invasive hemodynamic measurements and noninvasive assessment of left ventricular diastolic function by use of Doppler echocardiography in healthy anesthetized cats.

Secrest, S.A., Bailey, M.Q., Williams, K.J., Smarick, S.D., 2008. Imaging diagnosis--Feline idiopathic pulmonary fibrosis. *Vet Radiol Ultrasound* 49, 47-50.

Seeger, W., Adir, Y., Barberà, J.A., Champion, H., Coghlan, J.G., Cottin, V., De Marco, T., Galiè, N., Ghio, S., Gibbs, S., Martinez, F.J., Semigran, M.J., Simonneau, G., Wells, A.U., Vachiéry, J.-L., 2013. Pulmonary hypertension in chronic lung diseases. *Journal of the American College of Cardiology* 62, D109-D116.

Sherwood, L., 2006. *Physiologie humaine*, 2e ed.

Simonneau, G., Galiè, N., Rubin, L.J., Langleben, D., Seeger, W., Domenighetti, G., Gibbs, S., Lebrec, D., Speich, R., Beghetti, M., Rich, S., Fishman, A., 2004. Clinical classification of pulmonary hypertension. *Journal of the American College of Cardiology* 43, S5-S12.

Simonneau, G., Gatzoulis, M.A., Adatia, I., Celermajer, D., Denton, C., Ghofrani, A., Gomez, M.S., Kumar, R.K., Landzberg, M., Machado, R.F., Olschewski, H., Robbins, I.M., Souza, R., 2013. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Journal of the American College of Cardiology* 62, D34-D41.

Simonneau, G., Robbins, I.M., Beghetti, M., Channick, R.N., Delcroix, M., Denton, C.P., Elliott, C.G., Gaine, S.P., Gladwin, M.T., Jing, Z.C., Krowka, M.J., Langleben, D., Nakanishi, N., Souza, R., 2009. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 54, S43-S54.

Smith, R.S., Smith, T.J., Blieden, T.M., Phipps, R.P., 1997. Fibroblasts as sentinel cells. Synthesis of chemokines and regulation of inflammation. *The American journal of pathology* 151, 317.

Stacher, E., Graham, B.B., Hunt, J.M., Gandjeva, A., Groshong, S.D., McLaughlin, V.V., Jessup, M., Grizzle, W.E., Aldred, M.A., Cool, C.D., 2012. Modern age pathology of pulmonary arterial hypertension. *American journal of respiratory and critical care medicine* 186, 261-272.

Stenmark, K.R., Nozik-Grayck, E., Gerasimovskaya, E., Anwar, A., Li, M., Riddle, S., Frid, M., 2011. The adventitia: Essential role in pulmonary vascular remodeling. *Compr Physiol* 1, 141-161.

Strange, G., Playford, D., Stewart, S., Deague, J.A., Nelson, H., Kent, A., Gabbay, E., 2012. Pulmonary hypertension: prevalence and mortality in the Armadale echocardiography cohort. *Heart* 98, 1805-1811.

Sutherland-Smith, J., Hankin, E.J., Cunningham, S.M., Sato, A.F., Barton, B.A., 2018. Comparison of a computed tomographic pulmonary trunk to aorta diameter ratio with echocardiographic indices of pulmonary hypertension in dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 59, 18-26.

Tashjian, R.J., Das, K.M., Palich, W.E., Hamlin, R.L., Yarns, D.A., 1965. Studies on cardiovascular disease in the cat. *Annals of the New York Academy of Sciences* 127, 581-605.

Tasker, S., Foster, D., Corcoran, B., Whitbread, T., Kirby, B., 1999. Obstructive inflammatory laryngeal disease in three cats. *Journal of feline medicine and surgery* 1, 53-59.

Taylor, S.S., Harvey, A.M., Barr, F.J., Moore, A.H., Day, M.J., 2009. Laryngeal disease in cats: a retrospective study of 35 cases. *Journal of feline medicine and surgery* 11, 954-962.

Tuder, R.M., 2017. Pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Cell and tissue research* 367, 643-649.

Tuder, R.M., Archer, S.L., Dorfmueller, P., Erzurum, S.C., Guignabert, C., Michelakis, E., Rabinovitch, M., Schermuly, R., Stenmark, K.R., Morrell, N.W., 2013a. Relevant issues in the

pathology and pathobiology of pulmonary hypertension. *Journal of the American College of Cardiology* 62, D4-D12.

Tuder, R.M., Marecki, J.C., Richter, A., Fijalkowska, I., Flores, S., 2007. Pathology of pulmonary hypertension. *Clinics in chest medicine* 28, 23-42.

Tuder, R.M., Stacher, E., Robinson, J., Kumar, R., Graham, B.B., 2013b. Pathology of pulmonary hypertension. *Clinics in chest medicine* 34, 639-650.

Uehara, Y., 1993. An attempt to estimate the pulmonary artery pressure in dogs by means of pulsed Doppler echocardiography. *J Vet Med Sci* 55, 307-312.

Vezzosi, T., Schober, K., 2019. Doppler-derived echocardiographic evidence of pulmonary hypertension in cats with left-sided congestive heart failure. *Journal of veterinary cardiology* 23, 58-68.

Wagner, W.W., Jr., Latham, L.P., Capen, R.L., 1979. Capillary recruitment during airway hypoxia: role of pulmonary artery pressure. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 47, 383-387.

Wander, K.W., Monnet, E., Orton, E.C., 1998. Surgical correction of cor triatriatum sinister in a kitten. *J Am Anim Hosp Assoc* 34, 383-386.

Weitzenblum, E., Sautegeau, A., Ehrhart, M., Mammosser, M., Hirth, C., Roegel, E., 1984. Long-term course of pulmonary arterial pressure in chronic obstructive pulmonary disease. *American Review of Respiratory Disease* 130, 993-998.

Witter, K., Tonar, Z., Schöpper, H., 2017. How many Layers has the Adventitia? - Structure of the Arterial Tunica Externa Revisited. *Anat Histol Embryol* 46, 110-120.

Wright, J., Levy, R., Churg, A., 2005. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease: current theories of pathogenesis and their implications for treatment. *thorax* 60, 605-609.

Wright, J.L., Petty, T., Thurlbeck, W.M., 1992. Analysis of the structure of the muscular pulmonary arteries in patients with pulmonary hypertension and COPD: National Institutes of Health nocturnal oxygen therapy trial. *Lung* 170, 109-124.

Yen, R., Zhuang, F., Fung, Y., Ho, H., Tremer, H., Sobin, S., 1984. Morphometry of cat's pulmonary arterial tree. *Journal of biomechanical engineering* 106, 131-136.

Young, B., O'Dowd, G., Woodford, P., 2013. *Wheater's Functional Histology : A Text and Colour Atlas*, 6th edition ed. Churchill Livingstone.

Zhang, H., Dong, H., Mehmood, K., Li, K., Nabi, F., Chang, Z., Rehman, M.U., Ijaz, M., Wu, Q., Li, J., 2018. Physiological variations among blood parameters of domestic cats at high- and low-altitude regions of China. *Arch Physiol Biochem* 124, 458-460.

Zhuang, F., Fung, Y., Yen, R., 1983. Analysis of blood flow in cat's lung with detailed anatomical and elasticity data. *Journal of Applied Physiology* 55, 1341-1348.